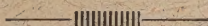


Travail du Laboratoire d'Histologie de la Faculté de Médecine
et du Centre Anti-Cancéreux de Montpellier

L'ACTION DES TOXIQUES SUR LA CELLULE EN DIVISION

Effet de la colchicine et du chloral
sur les mitoses de tissus normaux
et sur quelques tumeurs malignes



THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 20 Décembre 1941

par

Paul SENTEIN

Interne des Hôpitaux

Lauréat de la Faculté

(Prix du XXe. Congrès de Médecine)

Licencié ès Sciences

Moniteur d'Histologie

né à Montpellier le 10 avril 1913

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

Examineurs de la Thèse	{	TURCHINI, prof., président,	{	<i>Assesseurs</i>
		G. GIRAUD, professeur		
		LAMARQUE, professeur		
		GRANEL, professeur		

IMPRIMERIE
CAUSSE, GRAILLE ET CASTELNAU
7, RUE DOM-VAISSETTE, 7
MONTPELLIER

1941

L'ACTION DES TOXIQUES SUR LA CELLULE EN DIVISION



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Travail du Laboratoire d'Histologie de la Faculté de Médecine
et du Centre Anti-Cancéreux de Montpellier

L'ACTION DES TOXIQUES SUR LA CELLULE EN DIVISION

Effet de la colchicine et du chloral
sur les mitoses de tissus normaux
et sur quelques tumeurs malignes

—————
THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 20 Décembre 1941

par

Paul SENTEIN

Interne des Hôpitaux

Lauréat de la Faculté

(Prix du XXe. Congrès de Médecine)

Licencié ès Sciences

Moniteur d'Histologie

né à Montpellier le 10 avril 1913

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

Examineurs de la Thèse	{	TURCHINI, prof., président,	}	<i>Associés</i>
		G. GIRAUD, professeur		
		LAMARQUE, professeur		
		GRANEL, professeur		

IMPRIMERIE
CAUSSE, GRAILLE ET CASTELNAU
7, RUE DOM-VAISSETTE, 7
MONTPELLIER

1941

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Anatomie	
Histologie	
Physiologie	
Chimie biologique et médicale et toxicologie	
Physique médicale	
Anatomie pathologique et médecine expérimentale	
Microbiologie	
Pathologie et thérapeutique générales	
Thérapeutique et matière médicale	
Hydrologie thérapeutique et climatologie	
Hygiène	
Médecine légale et médecine sociale	
Pathologie médicale et clinique propédeutique	
Clinique médicale	
Clinique chirurgicale	
Clinique obstétricale	
Clinique des maladies mentales et nerveuses	
Clinique des maladies des enfants et hygiène du premier âge	
Clinique de dermato-syphiligraphie	
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	
Clinique des maladies des voies urinaires	
Clinique gynécologique	
Clinique ophtalmologique	
Clinique oto-rhino-laryngologique et maxillo-faciale	
Radiologie (ch. de c.)	
Anatomie (ch. de c.)	
Histologie (ch. de c.)	
Propédeutique chirurgicale	

MM. J. DELMAS
TURCHINI.
L. HEDON.
CRISTOL.
PECH.
BAUMEL.
N.
PAGES.
JANBON.
PUECH.
CARRIEU.
VIDAL.
BOULET.
RIMBAUD.
GIRAUD. doyen.
MASSABUAU, assesseur.
RICHE
P. DELMAS.
EUZIERE,
BOUDET.
MARGAROT.
ETIENNE.
JEANBRAU.
LAPEYRE.
DEJEAN.
TERRACOL.
LAMARQUE.
LAUX.
GRANEL.
AIMES.

Honorariat

Professeurs honoraires :

MM. TEDENAT, FORGUE, ESTOR, BERTIN-SANS
GALAVIELLE, BOSCH, VIRES, VILLARD, CABANNES, GRYNFELT

Chargé de cours complémentaires

Pathologie externe	
Médecine opératoire	
Chirurgie expérimentale	
Clinique de la tuberculose	
Clinique propédeutique médicale	
Clinique des maladies contagieuses	
Stomatologie	
Histoire naturelle médicale	
Accouchements	

MM. MOURGUE-MOLINES,
agréé.
ROUX, agréé.
GUIBAL, agréé.
VIDAL, professeur.
P. RIMBAUD, agréé.
JANBON, professeur.
Dr FERRIER, ch. de c.
HARANT, agréé.
CADERAS DE KERLEAU,
agréé.

Agrégés en exercice

Médecine. MM. P. RIMBAUD.
BOUCOMONT.
BERT.

Chirurgie	
Urologie	
Chimie	
Bactériologie	
Obstétrique	
Histoire naturelle médicale et parasitologie	

MM. MOURGUE-MOLINES
GUIBAL.
ROUX.
TRUC.
MONNIER.
CARRERE.
CADERAS DE KERLEAU
HARANT.

Examineurs de la thèse

TURCHINI, professeur, président.
G. GIRAUD, professeur.

LAMARQUE, professeur.
GRANEL, professeur.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A MES PARENTS

A MES CAMARADES D'INTERNAT

A QUELQUES AMIS

A MON MAÎTRE, LE PROFESSEUR JEAN TURCHINI

qui m'a appris dans son Laboratoire les règles de l'analyse expérimentale et de la discipline scientifique, et s'est intéressé avec bienveillance à mon travail et à ma vie,

En témoignage de reconnaissance et de respect.

A MON MAÎTRE, LE DOYEN GASTON GIRAUD

qui m'a encouragé pendant les jours de lassitude, donné l'exemple, pendant les heures de travail, enseigné la critique serrée des faits cliniques et préparé ainsi à la rigueur de la critique expérimentale,

En témoignage de vive reconnaissance.

A MON MAÎTRE, LE PROFESSEUR PAUL LAMARQUE

qui m'a accueilli avec son hospitalité cordiale, m'a donné des moyens de réfléchir et de travailler, m'offrant ainsi les joies les plus pures que la carrière médicale puisse dispenser,

En témoignage de profonde confiance.

A MON MAÎTRE, LE PROFESSEUR GRANEL

qui m'a conseillé dans mes premiers travaux de Laboratoire, dont la bonté et la délicatesse ont été pour moi un réconfort constant,

En témoignage de reconnaissance.

AUX MAÎTRES

dont je fus l'élève à la Faculté et dans les Hôpitaux.

L'action des toxiques sur la cellule en division

INTRODUCTION

Depuis la découverte de la division indirecte, par SCHNEIDER (1873), STRASBURGER et FLEMMING (1877), depuis qu'entre autres la thèse d'agrégation du Professeur GILIS (1886) et le bel article du Professeur L. VIALETTEON, dans la *Revue Scientifique* (1892), ont exposé d'une façon précise les processus morphologiques de la caryocinèse, de nombreux travaux de physiologie cellulaire ont été entrepris, pour analyser les facteurs susceptibles de modifier ce mode de division. Sans doute, en existe-t-il un autre, la division directe ou amitose, considéré souvent comme moins important. Nous ne nous en occuperons pas pour le moment.

On connaissait par des expériences nombreuses certains facteurs physiques, comme la température ou les radiations, chimiques, comme les sels de potassium, biologiques, comme la suralimentation, capables d'avoir une influence réelle sur l'accélération ou le retard des phénomènes cinétiques chez divers animaux. Mais à part les rayons de RÖNTGEN, dont l'effet n'est bien connu d'ailleurs que depuis peu de temps, on n'avait pas à sa disposition un agent assez électif pour altérer

exclusivement les cellules qui se divisent. Parmi les innombrables substances utilisées en thérapeutique, dont l'application à l'organisme humain est faite chaque jour, il y avait une disproportion énorme entre celles dont on connaissait l'action toxique sur le cytoplasme ou le noyau quiescent et celles qui agissaient sur l'activité cinétique. Pourtant, les expériences de HERLANT (1920) montraient qu'au milieu du déroulement de la caryocinèse, il y avait une phase de perméabilité cellulaire maximum, ce qui devait permettre aux toxiques d'atteindre plus facilement la chromatine en plein remaniement. C'est la métaphase, qui se présente donc, ainsi que le rappelait naguère notre maître, le Professeur TURCHINI, comme « la période du cycle mitotique où la cellule est le plus vulnérable aux agents extérieurs ». Pourquoi donc a-t-il fallu attendre les travaux de DUSTIN pour connaître ces toxiques et leurs applications? Parce que justement le problème était difficile et parce qu'il n'avait pas été considéré dans toute son ampleur. Il a fallu partir de points de vue très éloignés pour l'aborder en quelque sorte par la bande. La destruction pycnotique de la cellule thymique ayant attiré l'attention sur les problèmes de régénération, ceux-ci ayant conduit aux facteurs de la caryocinèse, on est arrivé, sans s'en douter, à étudier les causes qui provoquent l'excitation ou au contraire l'arrêt de la mitose.

Parmi les nombreux corps étudiés, il en est un, la colchicine, qui, s'il n'a pas été découvert le premier, tient cependant la première place par la généralité et la vivacité de son action. C'est pourquoi, sur les conseils et au laboratoire du Professeur TURCHINI, nous lui

avons consacré une longue étude et une analyse expérimentale personnelle, destinée à établir la manière dont il intervient dans la division. A cause de son activité très nette, même à doses faibles, cette substance a été appliquée d'emblée à un type pathologique de prolifération, sur laquelle les essais thérapeutiques ont une particulière importance: nous voulons dire le Cancer.

Le choix de la colchicine était-il heureux? Ou valait-il mieux utiliser d'autres substances, détruisant complètement la mitose au lieu de la bloquer, telles que la tryptaflavine, par exemple? L'avenir le décidera. En attendant, nous avons voulu, après tant d'autres, apporter notre modeste contribution à ce problème, dont on comprendra aisément combien il peut être passionnant par l'importance de ces conséquences. Nous avons pensé que l'étude thérapeutique de cet alcaloïde avait été trop tôt abandonnée pour le traitement des tumeurs et qu'il convenait de reconsidérer le problème. Les quelques résultats que nous apportons ont renforcé cette impression, sans entraîner un enthousiasme prématuré, autant que dangereux.

Reprenant dès son début cette question de cytotoxicologie, nous racontons dans un premier chapitre l'histoire des découvertes de DUSTIN; ce récit des vicissitudes que peut subir une hypothèse était nécessaire et il reste instructif.

Ensuite, nous analysons dans le détail le mode d'action de la colchicine avec les variantes qu'a pu apporter une expérimentation longue et variée. Nous arrivons à cette conclusion que cette action est d'inhibition et non d'excitation, et à des considérations plus générales sur la nécessité de bien choisir le matériel biologique, quand on veut en obtenir une réponse claire.

Passant en revue toutes les connaissances, tantôt vagues, tantôt fragmentaires, tantôt approfondies, mais limitées à un seul groupe biologique par exemple, qui agissent aussi sur la mitose, nous sommes amené à étudier avec plus ou moins d'intérêt un grand nombre de substances qui, à tort ou à raison, sont considérées comme agissant sur la caryocinèse. Nous verrons que le moment n'est pas encore venu d'élaguer dans cette foule de corps, parce qu'on n'a pas suffisamment distingué les poisons caryoclasiques d'une part et les toxiques électifs de la division, dont la colchicine est le type, d'autre part.

Il nous restera encore à développer l'enchaînement des applications diverses à la Biologie, à la Clinique et à la Thérapeutique, surtout à la Thérapeutique du Cancer.

Enfin, un dernier chapitre rapportera nos travaux personnels sur le mode d'action de la colchicine, dans les tissus normaux et néoplasiques, la manière dont nous l'avons appliquée en Cancérologie et les autres substances que nous avons essayé de lui comparer.

CHAPITRE PREMIER

HISTOIRE D'UNE DÉCOUVERTE

Comment l'étude de l'histophysiologie du thymus a conduit à la découverte de corps chimiques susceptibles de modifier la division cellulaire ? Par quel enchaînement de faits expérimentaux DUSTIN fut amené à délaisser les changements de la cellule thymique pour analyser les facteurs de la mitose ? C'est là une histoire très instructive et qui éclairera la suite des recherches, car il est utile de connaître la naissance d'une idée pour comprendre les hypothèses qui pèsent sur elle et risquent de la faire dévier.

Sans doute, DUSTIN n'était-il pas le premier à s'être préoccupé des actions exercées par des agents externes sur la cellule vivante, spécialement au moment où elle se reproduit. Des savants, comme les HERTWIG, POLITZER, DALCQ, l'avaient fait avant lui. Mais, tandis que la pharmacodynamie se cantonnait à des techniques purement physiologiques, l'histologie commençait à peine à se dégager de la morphologie pure. Ces chemins divergents ne devaient pas se rencontrer, jusqu'au

jour où la nécessité de résoudre un problème de physiologie tissulaire allait dévoiler enfin, après de sinueux détours, la nouveauté insoupçonnée que l'on n'attendait plus.

I. — La structure du thymus: priorité du thymocyte

L'auteur partait avec des conceptions claires et des hypothèses intéressantes, susceptibles de lui servir de fil conducteur dans ses recherches; ses idées sur la nature de la cellule thymique, le thymocyte, étaient de celles-là. Il avait travaillé cette question dans le laboratoire de PRENANT et en était arrivé à penser que cet élément, né sur place, dans une ébauche épithéliale, était certainement épithélial lui-même, alors que les autres types cellulaires décrits (certains vus par lui, tels que les cellules myoïdes) apparaissaient comme accessoires, variables — et d'ailleurs inconstants —, de nature mésodermique enfin. Rejetant ainsi l'hypothèse de JOLLY, HAMMAR, MAXIMOW, il pouvait attribuer à la cellule thymique des caractères constants et une importance physiologique particulière et se demander ce qu'elle devient au cours des variations de volume que l'organe peut subir.

Née sur place, dans le cortex thymique, très différente en cela des lymphocytes, dont les cellules mères se trouvent en majorité dans les « centres germinatifs » de Flemming, la cellule thymique a pour ancêtres des éléments peu différenciés, à noyaux gros et clairs, donnant naissance à une lignée de cellules de plus en plus petites, à noyaux de plus en plus foncés et de plus en plus riches en basi-chromatine. La série de mitoses qui

aboutit au thymocyte adulte mûr, s'accompagne donc d'une réduction progressive de volume des cellules et d'une condensation du noyau, les chromosomes eux-mêmes étant de plus en plus colorables. C'est ce que DUSTIN a appelé les « mitoses élassotiques ».

Sa vie achevée, la cellule thymique meurt aussi sur place par un double processus de caryorrhexis et de pycnose, qui se produit inévitablement au bout d'un certain temps, mais s'accroît sous certaines influences que nous aurons à analyser.

II. — Les variations fonctionnelles du thymus et leur signification

On connaissait depuis longtemps l'influence que l'âge, la grossesse, le jeûne, exerçaient sur l'involution thymique et, par contre, l'action hyperplasique d'une nourriture abondante, surtout si elle est riche en certaines substances; cette hyperplasie était due à l'enrichissement du parenchyme en cellules. En même temps, les éléments déclarés accessoires par DUSTIN (corps de HASSAL, par exemple) diminuaient de nombre et d'importance, pour réapparaître au cours des diminutions éventuelles de volume.

Mais, chose curieuse, les mitoses de régénération, qui aboutissent à cette hyperplasie, s'accompagnent d'une réduction plus lente du volume des noyaux et n'arrivent pas aussi rapidement au thymocyte condensé, d'où la présence d'un nombre plus grand de cellules dans l'organe hypertrophié, le thymoblaste gardant plus longtemps ses potentialités de cellule souche.

La régression provoquée par la puberté, les cycles saisonniers (hibernation), l'évolution sexuelle (élaboration des produits sexuels et du lait) montre que le thymus est un organe plastique, prêt à répondre à beaucoup de modifications organiques par des réactions vives et rapides. C'est pourquoi il a été choisi comme témoin de ces réactions.

III. — La destruction:

pycnose et caryorrhexis

Avant de connaître le mécanisme des mitoses de régénération, il fallait bien avoir une idée des facteurs de destruction. Dans certains thymus involués sous l'influence du jeûne, chez le Chat nouveau-né, on peut voir des lacunes de désintégration, objectivant en clair la disparition rapide des cellules, qui ne laisse finalement dans la corticale que son tissu réticulé.

Comment se fait cette destruction cellulaire?

a) Ou bien par la *pycnose*, condensation particulière de la chromatine qui, devenue beaucoup plus colorable, s'agglomère en une masse homogène, dense, très sidérophile, qui dégénère par la suite. Ce processus est d'autant plus fréquent que l'agression toxique ou infectieuse qui en est la cause a été moins brutale; il est suivi de phagocytose des restes nucléaires par des macrophages;

b) Ou bien par *caryorrhexis*, mode de destruction plus exceptionnel et accessoire, qui correspond à une infection ou une intoxication massive et violente. Ici le noyau se fragmente et ses fragments se dissocient, puis il disparaît.

Dans le cas le plus habituel, il y a une différence très nette de sensibilité entre les cellules de la corticale et celles de la médullaire, en sorte que ces dernières sont presque complètement respectées et que la périphérie de l'organe devient nettement plus claire que le centre. C'est l'aspect histologique classique du « thymus inversé ».

Cette plasticité du thymus signifie que celui-ci représente le réservoir où l'organisme met en réserve une certaine quantité de nucléoprotéides, susceptibles d'être reprises pour la consommation générale au moment où le besoin s'en fait sentir. C'est le grand régulateur du métabolisme nucléinien, surtout pour les tissus de nature ectodermique. Ces substances peuvent être utilisées soit directement sous forme énergogène, soit indirectement sous forme histiogène.

IV. — La régénération, ses causes

Il était intéressant de démontrer ce double mécanisme et de se demander quels facteurs en particulier peuvent déclencher les divisions cellulaires, nécessaires pour réparer les pertes que crée dans une population de cellules la destruction de certaines d'entre elles. Ces deux faits, destruction et régénération, étant étroitement liés en ce qui concerne le thymus, on allait les retrouver liés, chaque fois qu'on essaierait d'étudier le déterminisme de l'un d'entre eux.

A) INJECTION DE VITELLUS

Un jeune biologiste, BLUMENTHAL, avait montré que la réviviscence de la moelle osseuse chez la Grenouille était obtenue par l'injection intra-péritonéale de jaune

d'œuf de Poule, émulsionné dans du sérum artificiel et que celui-ci faisait apparaître de nombreuses caryocinèses dans les cellules médullaires. D'autre part, après l'hibernation, nous avons vu qu'une alimentation trop abondante provoquait une réjuvenescence du thymus. Qu'arriverait-il si, au lieu de la voie digestive, on utilisait la voie parentérale?

DUSTIN constate que le résultat obtenu par BLUMENTHAL se vérifie aussi pour le thymus, mais il observe en outre une phagocytose intense des plaquettes vitellines par les macrophages. Quand cette phagocytose s'achève, alors seulement les cinèses apparaissent.

Comment interpréter cette expérience? L'existence d'un temps de latence fait penser que le vitellus ne contient pas lui-même l'agent capable de déclencher les mitoses. Mais celui-ci serait-il par hasard un produit de la digestion des leucocytes, donc une substance de nature protéique? Il faut le vérifier par une nouvelle expérience.

B) INJECTION DE PROTÉINES ÉTRANGÈRES

PAILLOT avait observé, sous le nom de *caryocinétose*, chez des Chenilles de *Pieris brassicae* Ed, l'apparition de mitoses dans les leucocytes, après inoculation de cultures microbiennes et de diverses protéines. LISON avait retrouvé des images analogues chez des Oligochètes terri-
coles, et, d'ailleurs, quelques années après, CARFEL et EBELING découvriraient que les leucocytes avaient la propriété de prélever dans le sérum sanguin les substances nécessaires à la constitution de tréphones, pour les céder ensuite à ces cultures de tissus (fibroblastes d'embryon de Poulet).

DUSTIN désirait appliquer ces notions déjà connues à l'analyse de ses expériences précédentes, mais, entre temps, il avait dû changer de technique: en effet, les Batraciens, trop éloignés des Mammifères, étaient soumis à un rythme sexuel et saisonnier trop rigoureux, et il fut amené à préférer la Souris comme objet d'étude. Seulement, le vitellus d'œuf de Poule étant trop toxique pour cet animal, il fallut trouver autre chose. Injectant à des Souris, par voie intra-péritonéale, 1 à 3 cm³ de sérum étranger humain aseptique, il obtient les résultats suivants:

a) Dans le thymus, une *onde de mitoses*, débutant au deuxième jour après l'injection, donc avec un certain temps perdu, atteignant un maximum, pour diminuer ensuite et se terminer du sixième au huitième jour;

b) Le fait se généralise: non seulement il s'observe dans le thymus, mais aussi partout où il y a des tissus susceptibles de se multiplier (organes lymphoïdes et rate);

c) Ces phénomènes sont assez importants pour qu'il y ait augmentation macroscopique du volume des organes considérés.

Une analyse expérimentale permet de prouver que le sérum agit aussi bien frais que chauffé, que l'introduction par une autre voie (sous-cutanée, par exemple) ne change rien au phénomène et que la répétition des doses ne le modifie pas dans son essence, puisqu'une injection faite treize jours après la première, donne le même degré d'activation mitotique, bien que plus tardive (le 17^e jour seulement, au lieu du 15^e, comme on aurait pu s'y attendre).

De l'étude des fonctions du thymus, on passe à celle des facteurs généraux de la division indirecte, et l'on voit déjà se dessiner le groupe d'organes où celle-ci peut être particulièrement atteinte.

V. — Analyse de l'agent mitogène

Le sérum étranger, complexe constitué de divers éléments, doit subir à son tour la dissection de l'analyse expérimentale.

A) ACTION DES DIVERS CONSTITUANTS DU SÉRUM

Ayant éliminé le rôle possible de la voie d'introduction, en faisant aussi des injections sous-cutanées, DUSTIN recherche si les constituants du sérum ont la même efficacité que le sérum lui-même.

a) L'injection à trois lots différents de Souris de sérine, de globuline et du mélange sérine + globuline, donne des résultats absolument identiques;

b) Des substances protéiques plus simples, telles que les peptones, peuvent, elles aussi, être le résultat de la digestion intra-leucocytaire d'albumines complexes. Comment va se comporter la Souris après injection de 1 cm³ d'une solution de peptone stérilisée? Après un choc violent, qui dure deux heures, on observe une élévation du nombre de cinèses du 1^{er} au 4^e jour, suivie d'une augmentation macroscopique du volume de l'organe. Cette « réaction mitotique » est très faible dans le thymus, mais apparaît, quoique moins nette, dans la rate et les plaques de Peyer. Les ganglions lymphatiques ne répondent pas de la même façon: il y a ascension de la courbe des mitoses jusqu'au 2^e jour, puis celle-ci baisse progressivement. A ces injections

de peptones, tous les organes ne réagissent donc pas identiquement. Notons ce fait, que nous retrouverons bien des fois au cours de notre étude, et dont nous critiquerons la signification.

B) ACTION DE LA RÉPÉTITION DES DOSES :

LA CINÉPHYLAXIE

On pouvait se demander si des injections successives du même agent pouvaient faire apparaître des ondes successives de même intensité, ou bien si elles provoqueraient (selon toute vraisemblance) une accoutumance progressive. Cette dernière hypothèse paraissait la plus logique, car l'accroissement d'un organe ne peut être indéfini.

C'est bien ce que l'expérience semble confirmer :

Si l'on fait, tous les quatre jours, une injection intrapéritonéale de $1/5^e$ de cm^3 de solution de peptone à 5%, pendant quarante jours, voici ce qu'on observe :

a) Il y a beaucoup plus de cinèses dans le thymus que dans les autres organes ;

b) Il y a descente de la courbe générale des cinèses après chaque injection, du 4^e au 40^e jour ; à la 10^e injection, les chiffres en sont presque normaux ;

c) L'allure descendante de cette courbe est la même pour tous les organes.

Comment interpréter ces résultats ? Y a-t-il épuisement de la capacité cinétique des cellules, ou bien une régulation intervient-elle, soit par insensibilité acquise à l'agent mitogène, soit par dégénérescence pycnotique rapide et prématurée dès la division ?

L'injection de sérum de cheval quatre jours après la dernière et 10^e injection de peptones, fait apparaître une onde de mitoses aussi élevée que la première fois. Il n'y a donc pas épuisement.

Vérifier la seconde hypothèse est le but de l'expérience suivante: si l'on fait, après la série de dix injections de peptones, suivie de cinq semaines de repos, une nouvelle injection à l'expiration de ce délai, on constate qu'il n'y a pas d'élévation du nombre de mitoses dans les ganglions lymphatiques, les plaques de PEYER, la rate, mais que le thymus, lui, réagit très vivement. DUSTIN interprète cela comme une accoutumance qui s'effacerait beaucoup plus vite pour le thymus que pour les autres organes, et il donne à ces phénomènes nouveaux le nom de *cinéphylaxie*.

VI. — Relations entre mitoses et pycnoses, les phénomènes limitatifs de la prolifération

Il ne suffit pas de connaître les réactions du thymus aux facteurs d'excitation de la mitose, il faut encore savoir, des phénomènes de régénération (mitose) et de destruction (pycnose), lequel précède l'autre et quelle est leur relation de cause à effet.

A la suite des injections de sérum, par exemple, on constate que les pycnoses, après une légère élévation au 3^e jour, diminuent fortement le 5^e, pour se relever le 7^e et revenir enfin à la normale progressivement. Pendant ce temps, le nombre des mitoses suit une courbe inverse: il diminue jusqu'au 3^e jour, s'élève au 5^e et s'abaisse au 7^e. Ceci nous amène à penser non seulement que les deux ondes de mitoses et de pycnoses subissent une variation exactement inverse l'une par

rapport à l'autre, mais aussi qu'elles constituent un processus biologique très général de réponse du thymus à diverses modifications.

Voilà donc un résultat inattendu, que DUSTIN interprète ainsi: des deux ondes de pycnoses, la première correspond à « une révolution fonctionnelle » de l'organe pour libérer les nucléines nécessaires à la poussée leucocytaire provoquée par l'injection; la seconde, à un processus de régulation. Quant à l'onde de mitoses, ce serait un phénomène de restauration. Et l'on peut conclure que le sérum étranger agit par un mécanisme indirect; l'analyse des facteurs de la division aboutit à nous faire retomber sur un nouveau problème, qu'il va s'agir maintenant d'élucider. Retenons, en attendant, que les cellules ne peuvent s'accroître selon une courbe indéfiniment ascendante et que, dans le thymus tout au moins, deux mécanismes existent pour en compenser les effets: l'un est la pycnose, l'autre, la cinéphylaxie, qui empêche la répétition de poussées mitotiques successives et épuisantes.

VII. — Le facteurs de pycnose:

l'acidose expérimentale

Puisqu'il faut aborder le problème par l'autre bout et considérer d'abord l'onde de pycnoses, la première dans le temps, il convient de savoir quels sont les facteurs qui la conditionnent au cours de l'involution thymique. Nous avons déjà rappelé que le jeûne provoque dans le thymus l'apparition de destructions pycnotiques et l'aspect caractéristique du thymus inversé. Or, le jeûne s'accompagne d'acidose. On peut donc se demander comment agit celle-ci, considérée isolément.

L'injection intra-péritonéale de 1 cm³ de sérum artificiel, auquel on ajoute 0,75 % d'acide chlorhydrique à 22° B., donnera la réponse à cette question. Or, dès la 4^e heure, on voit apparaître des dégénérescences pycnotiques; à la 6^e heure, celles-ci augmentent, et, à la 24^e heure, elles sont innombrables, toujours suivies de digestion phagocytaire par les macrophages. On les trouve surtout dans le thymus, où elles atteignent exclusivement les thymocytes; les cellules souches résistent très bien et présentent même des mitoses, les autres tissus sont indemnes.

DUSTIN ne se contente pas de cette seule expérience: il se demande si l'acide a agi en tant que tel, ou bien si la variation brusque du pH est la véritable cause du résultat obtenu. Malgré la difficulté d'étudier l'alcalose, moins facilement supportée que l'acidose par les animaux de laboratoire, il fait intervenir celle-ci et constate qu'elle agit de même façon, mais avec moins d'intensité cependant. C'est donc la seconde hypothèse qui est la bonne.

Arrivé à ce stade de l'expérimentation, on peut donc concevoir la pycnose comme la preuve tangible des prélèvements que le thymus doit faire sur son propre tissu pour libérer les nucléoprotéines nécessaires dans des circonstances diverses et la mitose, comme un phénomène de restauration immédiate, permettant au cycle nucléinien de recommencer pour que l'organe soit prêt à la prochaine agression. Inversement, la cinéphyllaxie interviendrait pour empêcher l'excès de prolifération. L'équilibre instable ainsi établi pourrait donc être modifié par diverses causes, venues du milieu extérieur, ce qui explique les incessantes modifications de

volume du thymus dans diverses circonstances physiologiques et pathologiques.

Jusqu'à présent, les facteurs étudiés n'ont aucune trace de spécificité, mais l'expérimentation a mis en évidence un mécanisme organique qui a les caractères essentiels de toute organisation biologique: le rythme et l'adaptation.

VIII. — Un tournant de la découverte:

l'action du bleu trypan

C'est alors que le problème va rebondir. Comme des chemins voisins croisent souvent la voie où s'engage un chercheur, divers auteurs avaient constaté l'action élective d'agents chimiques sur la cellule en division. DE WINIWARTER avait noté l'action de l'arsenic sur les tumeurs lymphomateuses. Dans le même temps que DUSTIN, JOLLY, venu à des travaux analogues par l'étude des radiations, décrivait l'involution thymique à la suite de l'injection d'alcool.

DUSTIN poursuivait son analyse, il s'attaquait maintenant au problème des relations entre la pycnose et la phagocytose, essayant de dévoiler le mécanisme de cette dernière. Bien loin de chercher l'action d'un nouveau toxique, il injectait avec du sérum artificiel acidulé des Souris, préalablement traitées, 48 heures auparavant, par des injections de bleu trypan. Quel ne fut pas son étonnement en constatant que les coupes faites après 24 heures montraient des images pycnotiques apparaissant d'habitude vers le 3^e jour. Une expérience de contrôle lui montra que cette activité imprévue était bien due au colorant.

Le premier « poison caryoclasique » était trouvé.

**IX. — L'action des colorants d'acridine
la trypaflavine
Les sensibilités différentielles
et l'excrétion sphérulaire**

A) ACTION DE LA TRYPAFLAVINE

Epaulé par ce fait nouveau, riche de déductions à vérifier, DUSTIN s'engage alors dans une longue suite de recherches qui l'amèneront à de nouvelles découvertes. Ici, encore, ce sont des travaux antérieurs qui le mettent sur la voie.

G. HERTWIG avait montré en 1924 que des dilutions extrêmes de trypaflavine produisaient des lésions nucléaires du spermatozoïde, qui aboutissaient à empêcher sa fusion avec le noyau femelle, sans altérer sa structure en apparence et sans empêcher ses mouvements, de telle sorte qu'il ne peut jouer son rôle normal dans la fécondation et le déclenchement du rythme cinétique de l'œuf. On obtient ainsi une sorte de parthénogénèse réelle, comme DALCQ a pu le montrer par la suite, et là, encore, il y a analogie entre l'effet de ce corps et celui des rayons X.

Appliquant ce toxique à la Souris et lui injectant 1 cm³ d'une solution de trypaflavine à 1 pour 1000. DUSTIN observe que le cortex thymique et les centres germinatifs des organes lymphoïdes montrent les mêmes signes de choc caryoclasique qu'après injection de sérum acide. L'effet est même beaucoup plus intense que par ce dernier procédé: on voit des mitoses dégénérées en grand nombre avec pycnoses nombreuses; les mitoses de l'épithélium intestinal sont particulièrement attein-

tes et, 24 heures après l'injection, les glandes de Lieberkühn ne contiennent plus de cellules en division.

Remarquons en passant que les faits sont déjà différents; l'action se fait ici sur la mitose non pas indirectement par l'intermédiaire d'un processus de régulation organique, mais par intoxication directe de la cellule en division.

B) LES SENSIBILITÉS DIFFÉRENTIELLES

Contrairement aux autres tissus, l'épithélium séminal est entièrement respecté par la trypaflavine. Cette observation n'est pas nouvelle, nous avons déjà relaté comment les divers tissus répondent diversement à l'injection de peptone. Mais, le fait se répétant à nouveau, DUSTIN essaye de préciser ce point et d'établir une véritable hiérarchie des organes, par ordre de sensibilité aux toxiques.

a) Chez des Souris normales, des injections intrapéritonéales faibles ($0,5 \text{ cm}^3$ à 1 pour 1000) ou fortes (1 cm^3 à 1 pour 1000) montrent en effet des sensibilités décroissantes dans l'ordre suivant: intestin, thymus, centres ganglionnaires, plaques de Peyer, rate, testicule.

b) Mais si l'on étudie l'action de la trypaflavine sur les animaux atteints de tumeurs (LÆWIN avait recherché son action sur des Souris porteuses de néoplasmes), on s'aperçoit que si tous les organes normaux réagissent au poison, comme on vient de l'exposer, en revanche, les mitoses de l'adénocarcinome lui résistent et, qui plus est, le néoplasme des animaux intoxiqués conserve sa virulence, s'il est injecté à une autre Souris. Cette hypothèse comporte, si elle se vérifie, une conclusion théorique de la plus haute importance: *les cellules néo-*

plasiques sont plus résistantes à certains poisons caryo-clasiques que la plupart des cellules normales.

C) L'EXCRÉTION SPHÉRULAIRE

(DUSTIN, MAYER et VAN HEERSWYNGHEL)

L'étude de l'action de la tryptaflavine dans l'intestin grêle va nous donner des précisions intéressantes sur les altérations cellulaires provoquées par le toxique :

a) Un premier fait évident, c'est la diminution progressive du nombre des cinèses et leur disparition totale de la 7^e à la 9^e heure. Normalement, on trouve des mitoses dans le tiers inférieur des glandes de Lieberkühn, immédiatement au-dessus des cellules à grains de Paneth. Dans les heures qui suivent l'injection, elles deviennent de plus en plus rares jusqu'à la 9^e heure, puis disparaissent. Une onde tardive de mitoses peut apparaître de la 50^e à la 100^e heure ; les divisions augmentent en nombre, atteignent un maximum à la 64^e heure et reviennent à la normale vers la 100^e.

La tryptaflavine semble donc arrêter l'activité cinétique, qui reprend ensuite sous forme d'une onde tardive. Elle aurait donc une action exactement inverse de celle de la colchicine.

b) Si l'on examine la zone mitotique normale des glandes, après action de la tryptaflavine, on constate que dès la 7^e heure apparaissent dans le cytoplasme des sphérules, d'abord acidophiles, puis sidérophiles, qui deviennent de plus en plus nombreux et de plus en plus gros et atteignent souvent le volume du noyau. Ils sont très nombreux à la 17^e heure et, jusqu'à la 24^e heure, deviennent rares à la 48^e heure et disparaissent au 4^e jour.

Le travail de deux élèves de DUSTIN, MAYER et VAN HEERSWYNGHEL, contient une analyse approfondie de ce phénomène dont voici les conclusions :

Ces sphérules, dont la constitution chimique se rapproche de celle de la chromatine, n'auraient pas cependant une origine nucléaire, parce qu'on peut les trouver coexistant avec un noyau normal et même avec des chromosomes en mitose dans quelques cellules glandulaires, et parce qu'une seule cellule peut en contenir plusieurs ; de plus, les images où ils semblent faire partie du noyau seraient des images de superposition. Cependant, il faut établir un lien entre leur apparition et l'inhibition de l'activité cinétique provoquée par la tryptaflavine. On les trouve en grande partie dans la zone germinative des glandes de Lieberkühn, d'abord intra-cellulaires, puis excrétés dans la lumière glandulaire (excrétion sphérulaire), soit entiers, soit fractionnés et alors moins sidérophiles. Beaucoup plus rares à la surface des villosités, ils se rencontrent avec la même intensité dans le jéjunum et l'iléon, et aussi, mais moins fréquemment, dans le gros intestin, ce qui n'a rien d'étonnant puisque normalement les mitoses y sont beaucoup moins nombreuses. Mais, ce qui est plus surprenant, on ne les observe pas dans les glandes du fond gastrique, où l'on trouve, en revanche, une réduction des mitoses nettement moins accentuée que dans les glandes de Lieberkühn et, vingt-quatre heures après l'injection, on ne trouve plus de divisions dans celles-ci, tandis qu'il y en a encore dans celles-là.

Ces constatations, pour lesquelles les auteurs ne proposent aucune explication, sont d'autant plus intéressantes que l'action de la tryptaflavine sur les autres

organes est assez différente de ce qu'elle est pour l'intestin.

L'origine alimentaire de ces éléments, supposés résorbés par la muqueuse, a pu être éliminée grâce à des expériences de jeûne préliminaire, qui laisse persister l'excrétions phérulaire; le fait que des substances autres que la trypaflavine provoquent l'action caryoclasique, sans apparition de sphérules, ne peut faire considérer celle-ci comme une conséquence lointaine du choc caryoclasique général; la formation d'un composé protéino-acridinique est contredite par l'effet identique des radiations; il faut donc se contenter de rapporter cet aspect curieux à l'arrêt des divisions cellulaires dans une zone germinative.

C'est pourquoi la trypaflavine apparaît à DUSTIN comme le type des poisons qui arrêtent la division cellulaire et la font avorter. Il les appelle *poisons caryoclasiques du premier groupe*.

Nous aurons à discuter plus loin l'explication avancée par ces auteurs et la signification générale qu'il faut lui accorder. Mais il faut souligner d'abord que l'action inhibitrice se fait suivant un rythme particulier. A une première phase de diminution du nombre de mitoses, qui commence après un temps de latence de 2 heures et qui va jusqu'à la 50^e heure environ, succède une phase de repos plus brève de la 50^e à la 90^e heures, et enfin une phase de régénération dépassant le nombre de mitoses habituel (hypercinétose), le chiffre redevenant normal par la suite. Cette phase se place de la 100^e à la 140^e heure.

Malgré quelques variations d'horaire, le même rythme se retrouve dans d'autres organes que l'intestin

(thymus, organes lymphoïdes, rate), mais dans le foie, la surrénale, les îlots de Langerhans du pancréas la phase de diminution mitotique paraît inexistante (à moins qu'elle ne passe inaperçue en raison du petit nombre de cinèses dans ces organes) et l'on voit seulement des mitoses de régénération tardive en nombre nettement plus élevé que la normale, de sorte que la tryptaflavine possède cette propriété paradoxale de faire apparaître des mitoses là où il n'y en avait pas, et de les arrêter là où il y en a.

Retenons ces deux apparences opposées, dues à un même mécanisme de pharmacodynamie cellulaire, ce qui prouve, d'ores et déjà, qu'il faut dissocier dans l'action d'un toxique l'effet direct de celui-ci et l'effet indirect que produit la force de restauration, dont l'organisme est le dépositaire. Nous avons signalé en passant la similitude d'action entre la tryptaflavine et les rayons X. Or, un problème exactement semblable se pose dans l'étude des radiations.

MAYER a étudié aussi le *rivanol*, produit voisin de la tryptaflavine, dont l'action, plus faible, est cependant analogue; mais il provoque dans l'intestin grêle l'apparition de cinèses normales et aussi de cinèses atypiques très grandes, donnant parfois des noyaux monstrueux. Notons ce détail pour le moment.

X. — L'action des arsénicaux

les premiers excitants de la division cellulaire

HISTORIQUE

L'Ecole de Bruxelles allait poursuivre ses travaux en étudiant systématiquement les corps qui lui paraîtraient *a priori* capables de dévoiler les propriétés caryoclastiques encore inconnues. De ces corps, elle allait allonger peu à peu la liste, en se basant, pour les choisir, sur des analogies ou des indices tirés de travaux antérieurs. C'est ainsi que l'arsenic devait être expérimenté.

Dès 1875, DE WINIWARTER avait signalé l'efficacité de ce métalloïde dans les lymphadénomes et on connaissait même la guérison d'un lymphome malin par des injections répétées et progressives de liqueur de Fowler.

Mais, en revanche, SLOSSE et BAYET admettaient que le cancer du goudron est dû à l'arsenic que contient ce dernier ; LEITCH avait pu réaliser l'apparition d'un cancer de la Souris par badigeonnages cutanés arsénicaux, et CARREL, la transformation de tissus normaux en sarcomes fusocellulaires, en inoculant de la pulpe d'embryon et de l'anhydride arsenieux à des Poules ; l'extrait filtré de cette tumeur pouvait être ensuite inoculé en série et provoquer la maladie, comme celui d'un sarcome de Rous. Ces constatations, qui font de l'arsenic une arme à double tranchant, se retrouvent dans son action sur le sang : provoquant une polyglobulie à faible dose, il devient anémiant à dose forte. Allait-il aussi se montrer comme un excitant de la mitose à faible dose et un inhibiteur à dose forte ? Bien que des constatations analogues soient des faits banaux en pharma-

codynamie, PITON dit lui-même que « ce n'est là qu'une hypothèse, qui ne repose sur aucun fait expérimental bien établi ». Cela n'empêche pas l'utilisation commerciale du médicament et son étiquette publicitaire d'excitant de la division cellulaire.

WATJEN, étudiant, en 1927, dans un travail très documenté, l'action de l'acide arsénieux à dose toxique sur les organes lymphoïdes, venait de constater dans ceux-ci d'importantes désintégrations nucléaires, suivies de phagocytose des débris par les macrophages. Ces aspects s'observaient d'une façon fréquente dans les corpuscules de Malpighi de la rate et les centres germinatifs des organes lymphoïdes (ganglions, amygdales, plaques de Peyer); ils se rapprochaient de ceux qu'on observe après action des rayons X ou du benzo!. L'auteur expliquait ainsi l'intoxication mortelle par l'arsenic, dont la pharmacodynamie est bien connue chez le Chien.

En 1929, PITON publiait son travail princeps sur l'action des composés arsenicaux, limité d'ailleurs à une étude très approfondie de l'anhydride arsénieux, du cacodylate, de l'arrhéнал et de l'atoxyl. FIRKET, ayant invoqué, pour expliquer les choes caryoclasiques, l'action directe de l'injection sur la séreuse péritonéale, PITON a préféré la voie sous-cutanée, pour éviter cette objection.

RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES

1° *Avec l'anhydride arsénieux*, on obtient:

a) Une poussée mitotique précoce, intense et rapide, donnant sur un graphique un aspect de courbe en clocher, apparaissant après un temps de latence excessi-

vement faible et qui, par conséquent, n'est plus sous la dépendance d'une poussée préalable de dégénérescences pycnotiques. Cette phase va de la 2^e à la 12^e heure.

b) Une phase de repos mitotique de la 12^e à la 36^e heure.

c) Une troisième phase: deuxième poussée mitotique, plus lente et progressive que la première, allant de la 36^e heures au 6^e jour, atteignant son maximum les 3^e et 4^e jour, et se traduisant sur un graphique par une courbe en dôme.

d) Coïncidant avec la première phase mitotique, mais durant plus longtemps qu'elle (de la 2^e à la 24^e heure), une poussée pycnotique intense.

e) Des réactions pycnotiques secondaires variant en sens inverse des mitoses; mais cette variation n'a sa régularité parfaite que dans le thymus, elle est plus irrégulière dans les organes hématopoïétiques.

RÉFLEXIONS :

A) L'apparition très rapide d'une poussée mitotique et l'intensité de cette poussée dans les premières heures sont des faits nouveaux: pour la première fois, nous sommes avec certitude en face d'un toxique qui agit rapidement d'emblée sur la division cellulaire et non pas après une poussée pycnotique suivie de régénération.

PITON remarque, en effet, que les index mitotiques comptés au début de l'action de doses fortes sont les plus élevés que l'on puisse observer.

B) La longue durée de la poussée pycnotique, qui dépasse dans le temps la poussée de mitoses, fait pen-

ser qu'il y a peut-être dégénération de celles-ci, mais l'auteur n'ose pas tirer cette conclusion.

C) Les phénomènes constatés sont en relation directe avec les doses.

D) L'existence de deux ondes (poussée mitotique précoce en clocher et onde secondaire de cinèses) a suscité diverses interprétations: la première paraît indiscutablement liée à l'action directe du toxique; la seconde, qui correspond à la *caryocinétose* des Invertébrés ou à l'*onde de cinèses* de DUSTIN, est peut-être un phénomène réactionnel.

E) Comme la trypaflavine, l'arsenic révèle des *sensibilités différentielles*, mais celles-ci sont très nuancées. PITON distingue les sensibilités décroissantes à la mitose dans l'ordre suivant (thymus, ganglions, rate) et les sensibilités décroissantes à la pycnose qui s'ordonnent ainsi: ganglions, rate, thymus.

Les mitoses des glandes de Lieberkühn sont ici entièrement respectées, il ne s'agit pas d'une question d'élimination du toxique, puisque, tout à côté, les plaques de Peyer sont le siège de phénomènes caryoclasiques intenses. De même, les spermatogonies et les spermatocytes sont absolument intacts.

F) Dans les conditions de l'expérience, la cinéphyxie n'existe pas pour le thymus; pour les organes lymphoïdes, on ne peut l'affirmer aussi nettement. Au contraire, une certaine diminution des mitoses s'observe dans les centres germinatifs, à la suite d'injections répétées de poison. L'intérêt de cette question est de savoir si l'arsenic, à doses répétées, est capable d'épuiser la capacité mitotique des cellules souches, tout en

respectant la sensibilité à la pycnose des cellules mûres, et d'entraîner ainsi l'atrophie du tissu lymphoïde. Il n'en est pas exactement ainsi. Des expériences faites, pour répondre à cette question, il résulte que l'épuisement de la capacité mitotique n'est jamais complet dans les centres germinatifs, parce que, d'après l'hypothèse de WATJEN, les lymphocytes périphériques peuvent se différencier et donner des cellules très sensibles à la pycnose, de sorte que les lymphoblastes continuent à se diviser quelque peu. La destruction de ces lymphocytes expliquerait la régression des organes lymphoïdes.

2° *Le cacodylate de soude* (diméthyl-arsinate de soude).

a) La cacodylate provoque une élévation considérable du nombre de divisions dans les premières heures, à tel point que celles-ci dépassent le chiffre des pycnoses.

b) Ces mitoses ont un aspect anormal. Avec des doses moyennes, voici ce que l'on observe: « En examinant, par exemple, une métaphase, on constate que la plaque équatoriale est formée de petits grumeaux de basichromatine, placés à la file l'un de l'autre et retraçant, par leur juxtaposition, l'allure générale d'un chromosome. On assiste ici à un processus très spécial de pycnose des chromosomes. Lorsque celle-ci est très prononcée, les petits grumeaux ont tendance à s'écarter l'un de l'autre et la mitose abortive offre l'aspect d'un gros noyau frappé de caryorrhesis ».

3° *L'arrhénal*.

Ce corps agit avec électivité sur le cortex thymique, puis la rate et les ganglions. L'intestin grêle ne montre

aucune modification des glandes de Lieberkühn, mais les plaques de Peyer sont touchées. La poussée mitotique est beaucoup plus faible qu'avec le cacodylate et les divisions n'avortent pas obligatoirement; elles peuvent évoluer normalement. L'ordre des sensibilités différentielles à la pycnose est exactement inverse pour l'arrhé-nal et le cacodylate, dans leur action sur les organes lymphoïdes.

4° *L'atoxyl ou arsamine* agit d'une façon qui se rapproche beaucoup de celle de la trypaflavine et des radiations, c'est-à-dire en respectant les cellules intestinales. Or, sa formule a quelque ressemblance avec celle de la trypaflavine, qui contient aussi le groupement $C^6H^4NH^2$.

CONCLUSIONS

Si nous résumons rapidement l'ensemble de ces faits, nous pouvons conclure que :

a) Tous les arsenicaux sont de violents caryoclastiques;

b) Tous les arsenicaux respectent les mitoses spermatogénétiques (cette conclusion devra être corrigée par la suite);

c) Tous frappent plus ou moins les organes lymphoïdes et le thymus;

d) Parmi ces derniers organes, les sensibilités différentielles sont extrêmement variées. Mais, d'une façon générale, les phénomènes mitotiques et pycnotiques atteignent la corticale thymique et les centres germinatifs;

e) Dans l'intestin grêle, les cellules de la zone germinative des glandes de Lieberkühn sont très sensibles au

cacodylate, tandis qu'elles résistent à l'anhydride arsénieux, à l'arrhéнал et à l'atoxyl;

f) La réponse des organes sensibles est partout la même, elle se fait en deux temps: l'un précoce, l'autre tardif, séparés par une phase de repos;

g) La première poussée mitotique est interprétée comme une action directe et rapide d'excitation à la division;

h) La phase hypercinétique tardive est constante, mais faible, et accompagne une onde de pynoses beaucoup plus forte;

i) C'est seulement dans le thymus qu'apparaît de façon nette l'existence d'un mécanisme cytorégulateur, corrigeant l'onde de mitoses par l'onde de pynoses. La cinéphylaxie n'existe pas ailleurs.

ACTION DES ARSENICAUX ET ALCALOSE

Sur le mécanisme intime de ces phénomènes devaient intervenir par la suite des discussions importantes, les expériences de PITON et ROCMANS ayant établi une relation très étroite entre les deux poussées mitotiques d'une part et les poussées parallèles d'alcalose humorale. Inversement, il y a un rapport, moins étroit cependant, entre la pynose et l'acidose. S'agit-il de variations du pH qui accompagnent ces phénomènes ou qui les déterminent? Aucune expérience cruciale n'a été faite pour le prouver. Il y a intérêt à rapprocher ces faits des travaux de SLOSSE et REDING, qui avaient observé la même liaison (mitoses-alcalose) après le choc peptonique, provoqué par DUSTIN chez la Souris. De là à en faire une cause de l'éclosion du cancer et de la division cellulaire dans celui-ci, il n'y avait qu'un pas,

vite franchi; des applications thérapeutiques un peu prématurées en ont été tirées immédiatement. Quoiqu'il en soit, il est difficile de savoir si les arsenicaux agissent directement ou par l'intermédiaire des fluctuations de l'équilibre acide-base. DUSTIN a maintenu sa théorie de l'action directe, spécifique et immédiate des dérivés de l'arsenic.

X. — Réflexions sur cet enchaînement d'expériences

L'étude des arsenicaux, qui précède celle du principal agent caryoclasique, la colchicine, doit nous inciter à faire halte et à proposer quelques réflexions à leur propos :

1° DUSTIN avait écrit, en 1911, qu'aucune substance ne pouvait provoquer la caryocinèse aussitôt après son introduction dans l'organisme; il ne croyait donc pas à ce moment à un mécanisme direct d'action sur la mitose;

2° Lorsqu'il découvrit les figures histologiques que détermine l'application du cacodylate, il interpréta d'emblée le grand nombre de divisions observées comme dû à une excitation de celles-ci, et toute la suite de ses recherches sera influencée par cette interprétation;

3° Dès le début de ses expériences il nota, sans en donner d'explication, les différences de réponse entre les organes étudiés. La découverte ancienne des sensibilités différentielles devait par la suite être généralisée et précisée. Mais, à aucun moment, il n'essaya d'analyser cette notion, de la critiquer et d'en extraire le contenu réel, tout en envisageant ses conséquences pratiques;

4° Enfin, la liaison ne semble pas avoir été faite entre les troubles de la mitose, que provoquent les poisons employés, et la dégénérescence nucléaire, qui en est la conséquence habituelle. L'excrétion sphérulaire, qui nous paraît aujourd'hui être due à une pycnose de mitose et que nous avons observée nous-même dans des tissus très variés, doit s'intégrer dans le cadre des lésions *nucléaires* provoquées par la trypaflavine.

Nous verrons, en poursuivant cette analyse, comment s'éclaireront peu à peu et se préciseront les différents problèmes que nous venons de soulever. Mais, avant de passer à l'étude de la colchicine, il convient de connaître les travaux parallèles ou convergents qui donnent aux recherches de DUSTIN un complément et un appui.

XII. — Travaux parallèles et convergents

A) TRAVAUX DE JOLLY

JOLLY avait été amené à des recherches sur le thymus et les organes lymphoïdes par son étude des rayons X. D'intéressantes expériences sur l'irradiation d'organes (ganglions), isolés de leurs connexions ou privés de leur irrigation, avaient démontré l'action directe des rayons X sur eux, mais aussi l'importance de la réaction des tissus environnants. La sensibilité particulière du thymus à diverses radiations, l'action de la lumière solaire, puis celle de l'érythrosine combinée avec cette dernière, l'étude d'une telle substance avec ses propriétés photosensibilisatrices (comparables à celles de la trypaflavine), tout cela avait amené à confirmer l'idée de DUSTIN, à savoir que la spécificité des agents physiques ou chimiques est d'importance secondaire, mais que la sensibilité de certaines chromatines « euclasti-

ques » à toutes sortes d'agressions est le phénomène primordial. L'essai des injections intra-péritonéales d'alcool, qui donnent un choc caryoclasique intense, a fait penser que les modifications de l'équilibre acide-base n'étaient pas le seul facteur qui puisse conditionner ce dernier.

Le fait que le thymus réagit vraiment trop facilement à toutes sortes de causes externes donne à ses réactions beaucoup moins d'importance que celles d'un organe quelconque, où l'activité mitotique est brusquement troublée (intestin, par exemple).

B) TRAVAUX DE FIRKET

A la liste des agents étudiés, FIRKET et LINHOFF ajoutent des substances huileuses (huile de paraffine et suspensions huileuses d'oléate ferreux). L'exsudation péritonéale intense qu'elles provoquent et l'apparition dans le mésentère de leucocytes en très grand nombre (d'abord polynucléaires, puis cellules mononuclées) suggère qu'il y a peut être un appel de substances nutritives vers les tissus capables d'en fournir, c'est-à-dire vers le thymus. Rappelant les travaux de WELLS et SACHS, qui attribuent la pycnose à un commencement de libération de l'acide thymonucléique dans la molécule nucléoprotéique (d'où basophilie intense), FIRKET pense que cette libération se fait sous le contrôle des nucléases, qui exigent pour agir un optimum de réaction du milieu, susceptible d'être créé par l'alcalose ou l'acidose.

Enfin, critiquant les expériences de DUSTIN sur l'acidose expérimentale, il essaie, par des saignées abondantes, de provoquer chez la Sourie une alcalose, qui ne se montre pas suivie de pycnoses ; puis, par ingestion

d'acide chlorhydrique chez le Chien, il ne réussit pas à obtenir une réaction thymique évidente. Il en conclut qu'une réaction tissulaire peut être déclenchée sans que le thymus réagisse par pycnose et que les modifications du pH ne suffisent pas à produire celles-ci.

De ces travaux, intéressants parce qu'ils montrent la complexité des faits, il ressort clairement que des organes, comme le thymus et l'appareil lymphoïde, sont le siège de trop de remaniements pour que l'action exercée sur eux par les toxiques puisse être analysée de façon simple et probante. L'étude de la colchicine montrera qu'il y a intérêt à se servir d'un matériel biologique favorable et bien connu (par exemple le tissu hépatique en régénération) pour avoir des chances d'arriver à une loi expérimentale.

XIII. — Les précurseurs

DUSTIN avait fini par concevoir qu'il existe des corps susceptibles de troubler directement et immédiatement la division cellulaire; il avait eu le mérite d'imaginer une série d'expériences, dont il avait su tirer les conclusions qui s'imposaient.

Si la première description des anomalies mitotiques remonte à ARNOLD (1879), qui constata la présence de figures caryocinétiques dans les carcinomes et à l'observation de cellules en division quadruple dans la membrane de DESCOMET, les premiers auteurs de la découverte de la mitose, STRASBURGER et FLEMMING, avaient longtemps rejeté cette possibilité. Pourtant, HANSEMANN avait retrouvé dans les tumeurs des divisions atypiques, surtout asymétriques (1890), et LEVINE, en 1925, devait confirmer ces observations primordiales en étudiant le

nombre de chromosomes aberrants dans les tumeurs animales et végétales.

Ce sont surtout les frères HERTWIG qui ont inauguré l'étude expérimentale de la caryocinèse; leurs travaux sur l'action de la quinine et de l'hydrate de chloral précèdent d'un demi-siècle ceux de DUSTIN. SCHOTTLANDER obtint des mitoses multipolaires en faisant agir le chlorure de zinc sur la cornée de la grenouille. Enfin, GALEOTTI, en se servant de la queue blessée d'une Salamandre, a obtenu diverses anomalies de la division par l'iodure de potassium, le sulfate de zinc, l'acide chromique, l'antipyrine. Déjà apparaissent, en dehors des figures asymétriques et multipolaires, les mouvements aberrants des chromosomes, les figures hypo et hyperchromatiques (1893).

Mais aucun des produits utilisés n'avaient donné à ces recherches sur la mitose l'importance et l'impulsion qu'a provoqué un alcaloïde déjà connu en thérapeutique: la colchicine.

CHAPITRE II

LA COLCHICINE ET SON MODE D'ACTION

I. - Découverte et analyse de l'action de la colchicine

Les premiers travaux de Lits et Dustin

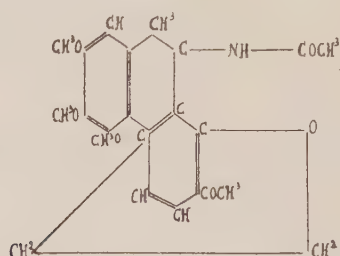
1° D'abord qu'est-ce que la colchicine?

La colchicine est un des alcaloïdes extraits du *Colchicum autumnale* Linn. Cette plante, Liliacée qui fleurit en automne, est utilisée depuis la plus haute antiquité comme remède contre la goutte. Les Byzantins l'employaient et on la trouve prescrite par Jacques PSYCHRISTE, physicien et conseiller de l'Empereur Léon le Grand (v^e siècle). On la mélangeait à ce moment-là à des aromates, pour éviter son action irritante sur le tube digestif. Frappée d'une interdiction injuste par Dioscoride, oubliée pendant le Moyen Age et la Renaissance, elle fut remise en honneur par Sennert, au xvii^e siècle, ce qui permit les premiers travaux scientifiques de

STOERCH (1763), puis de ARMSTRONG, HADEN, SCUDAMORE, WANT et WILLIAMS.

La colchicine en fut extraite en 1887 par Houdé. Ce corps se présente sous la forme de poudre ou de paillettes jaunâtres, inodore, plus soluble à froid qu'à chaud. Sa solution aqueuse et jaunâtre, lœvogyre, instable à la lumière et de goût amer; elle est soluble dans l'alcool, le chloroforme et peu dans l'éther. Son point de fusion est mal défini, en raison des altérations que la chaleur lui fait subir.

Sa formule chimique grossière est $C^{22}H^{25}NO^6$, ou mieux: $(CH^3O)^3 C^6 H = (C^{10}H^8O) < \begin{matrix} O & C & H^3 \\ | & & | \\ NH & -CO- & CH \end{matrix}$ et sa formule de structure d'après WINDHAUS:



Comme la morphine et les alcaloïdes voisins, c'est un dérivé du phenantrène, mais avec cette différence qu'elle ne possède aucun cycle azoté, l'atome d'azote faisant partie d'une fonction amide aliphatique.

Travaux pharmaco-dynamiques et cytologiques antérieurs

Quoique bien des détails restent encore à préciser dans l'étude de ses propriétés, la colchicine a fait l'objet d'un certain nombre de travaux. On connaissait depuis

longtemps l'intoxication accidentelle du bétail par absorption de colchicine mêlée au foin séché (car les animaux délaissent généralement la plante, en raison de sa saveur amère).

Enfin, des auteurs, comme PELLETIER et CAVENTOU, GLEY, WINTERSTEIN, JACOBSON, avaient étudié son action physiologique.

Nous ne pouvons analyser ici tous ces travaux, mais nous retiendrons toutefois que dans celui de MAIRET et COMBEMALE, qui date de 1887, on trouve déjà signalé le fait que le médicament congestionne les extrémités articulaires et la moelle osseuse.

D'une façon générale, les signes d'intoxication se ramènent à un syndrome nerveux à prédominance vagale (dyspnée, tachy, puis bradycardie, nausées, hoquet, salivation, sommeil difficile, anorexie, secousses musculaires, mydriase), un syndrome de congestion et de vasodilatation, peut-être par paralysie vasomotrice, un syndrome gastro-intestinal, allant de la simple diarrhée jusqu'à une gastro-entérite toxico-hémorragique (ténésme, selles sanglantes, râclures de boyaux); enfin, si l'intoxication est grave, des signes de néphrite parenchymateuse avec oligurie et hématurie.

Aucun de ces faits ne mettait sur la voie d'une action cytologique particulièrement élective, jusqu'aux travaux de DIXON et MALDEN (1908).

2° La leucocytose colchicinique

A. — *Travaux de Dixon et Malden*

Ces auteurs avaient étudié, en se plaçant à un point de vue pharmacodynamique et cytologique à la fois,

l'action de l'alcaloïde sur le Lapin, le Chien et l'Homme. La partie histologique de leur travail se rapportait à l'action de la colchicine sur les organes hématopoïétiques. Le Lapin, après avoir reçu 2,5 à 5 mgr. par kilog. de poids corporel, réagissait, tout comme le Chien et l'Homme, par une leucopénie initiale, suivie d'hyperleucocytose. Cette dernière était due à une augmentation des cellules mononuclées d'abord, puis à une polynucléose. Son maximum se plaçait entre la 10^e et la 24^e heure après l'injection.

A la différence de cet animal, chez le Chien (avec 0,4 mgr. par kilog. de poids) et chez l'Homme (avec les doses de la pharmacopée), la leucocytose était due à une polynucléose d'emblée sans mononucléose. Beaucoup des polynucléaires apparus dans la circulation étaient altérés sur les frottis et sur les coupes. Les auteurs interprétaient ces faits comme une mise en circulation de cellules prématurées ou trop rapidement mûries. On trouvait en effet dans le sang de nombreux myélocytes.

La lignée rouge n'était pas respectée; les hématies, souvent polychromatophiles, étaient parfois en état d'hémolyse. De temps en temps, des poussées de normoblastes ou même d'érythroblastes moins différenciés, indiquaient une réaction de la moelle rouge, pour compenser les altérations subies.

Or pendant le stade de leucocytose maximum les coupes de moelle osseuse montrent une diminution du nombre des cellules médullaires, comparativement avec les témoins; en revanche, pendant la phase de leucopénie, les cellules de la moelle semblent augmenter de nombre.

Des doses plus faibles et répétées provoquaient des phénomènes analogues avec une réaction plastique plus forte (6,5 % de myélocytes, normoblastes, hématies à granulations basophiles) et une polychromatophilie intense, le nombre des mastzellen s'élevant, sans que celui des autres leucocytes soit augmenté.

En résumé, après des doses fortes, tous les éléments normaux de la moelle semblent avoir passé dans la circulation générale (conclusion tirée par DIXON et MALDEN eux-mêmes) et après des doses faibles mais répétées une prolifération apparente des cellules médullaires et surtout une *profusion d'aspects mitotiques* furent observées dès cette époque.

B. — *Quelques réflexions sur ces faits*

De ces travaux des auteurs anglais, dont nous venons d'extraire l'essentiel pour notre sujet, un certain nombre d'impressions se dégagent :

D'abord, à des doses fortes tout au moins, l'ensemble des phénomènes décrits se rapproche plutôt d'une destruction primitive dans le sang (leucopénie), suivie d'une chasse répétée de globules blancs vers la circulation, alors que la moelle se vide de ses éléments, ce qui rappelle les réactions observées fréquemment au cours des anémies.

Ensuite, des doses plus faibles laissent paraître une régénération médullaire ébauchée avec « une prolifération apparente des cellules » et surtout une « profusion d'aspect mitotiques ». Rien ne prouve que ces phénomènes soient primitifs et rien dans tout cela n'évoque l'idée d'une stimulation de l'hématopoïèse médullaire. Pourtant, c'est sur cette action que comptèrent NICAUD,

TAURET et TOULET, pour rénover dans une anémie benzolique l'hématopoïèse défaillante. Inutile de dire que le résultat ne les a pas encouragés. Il n'est pas sans intérêt de noter que DIXON et MALDEN avaient déjà vu le grand nombre de mitoses qui caractérise l'action de la colchicine, sans y attacher, il faut bien le dire, l'importance qu'on devait lui reconnaître plus tard. Malgré ce travail précurseur, l'honneur de la découverte revient donc tout entier à DUSTIN.

3° L'action de la colchicine sur la mitose (Dustin et Lits)

En 1934, DUSTIN avait chargé son élève LITS, d'une part, de vérifier chez la Souris les travaux de DIXON et MALDEN, d'autre part de rechercher si la leucocytose due à la colchicine coïncidait avec une action sur le thymus et les organes hématopoïétiques. Au fond, il essayait de refaire pour cet alcaloïde l'essai heureux qu'il avait fait dix ans auparavant avec l'injection de protéines étrangères.

Les résultats dépassèrent toute attente.

Sans doute, les effets obtenus n'étaient pas nouveaux : ils étaient exactement superposables à ceux qu'avait donné le cacodylate de soude, mais, tandis qu'il fallait une certaine dose pour déclencher l'action cytologique avec ce dernier, il suffisait d'une quantité 1.000 à 2.000 fois plus faible de colchicine pour obtenir le même résultat. Avec une dose de 0,025 mgr, on observait à peu près dans tous les organes les phénomènes suivants, que nous allons analyser en détail :

1° Partout où un tissu en voie de régénération permettait de supposer la possibilité de trouver des cellu-

les en division, on constatait une véritable « explosion » de figures caryocinétiques;

2°. Ces caryocinèses ont des caractères spéciaux:

a) La membrane de la cellule est tendue au maximum, cette dernière apparaît comme une vésicule gonflée, sous tension, sphérique quand elle est isolée, polygonale par pression réciproque, lorsque la densité mitotique est plus grande;

b) Le cytoplasme paraît clair, réfringent, parfois formé d'une certaine quantité de gouttelettes entourant la chromatine;

c) La membrane nucléaire a disparu généralement;

d) Le fuseau achromatique est invisible;

e) Les chromosomes sont agglomérés au centre de la cellule, avec un aspect qui rappelle celui de la plaque équatoriale. Mais souvent la chromatine ressemble à une boule centrale fortement sidérophile, hérissée de prolongements chromosomiaux plus ou moins épais et longs. Parfois, un chromosome mal individualisé s'étire hors du magma central. Plus rarement ils sont dispersés en fragments régulièrement répartis dans l'aire cellulaire et la mitose dégénère en caryorrhexis.

3° Ces divisions à caractères anormaux restent bloquées un certain temps, que DUSTIN évalue à un jour entier environ chez la Souris, ensuite elles sont forcées de dégénérer.

4° Interprétation des faits expérimentaux

A. — *L'excitation de la mitose*

Aussi bien pour la colchicine que pour le cacodylate, certains faits étaient évidents: il est facile de retrouver les mitoses anormales dues à ces poisons, avec

leurs caractères particuliers et leur accumulation considérable dans les zones germinatives. Mais il s'agit maintenant d'en interpréter l'existence et sur ce terrain délicat, des conceptions assez opposées vont venir s'affronter.

On observe, dit DUSTIN, un nombre de divisions si considérable que leur simple accumulation par blocage est incapable de l'expliquer et qu'il faut recourir à une autre explication: la colchicine et le cacodylate commencent par faire entrer en division toutes les cellules « en imminence caryocinétique », après quoi les chromosomes sont bloqués en métaphase et la division ne pouvant s'achever, la seule possibilité reste la dégénérescence nucléaire par pycnose. Un raisonnement par analogie vient appuyer cette conception: en utilisant la trypaflavine ou le bleu trypan, on n'a jamais observé une pareille abondance de mitoses et pourtant leur action toxique est assez vive. Il s'agit donc d'un phénomène nouveau: c'est la stimulation de la caryocinèse. Tous les auteurs français ou étrangers qui ont soutenu cette manière de voir ont repris cet argument, sous des formes différentes. Nous verrons plus loin de quelles critiques il peut être l'objet.

Ces mitoses, que l'auteur a proposé d'appeler *mitoses cacodyliques*, qu'il a appelé ensuite *mitoses colchicinales*, quand l'intensité de la réaction à l'alcaloïde l'aura frappé, ont évidemment des caractères spéciaux qui empêchent de les identifier à des divisions normales. Elles sont, en effet, arrêtées dans leur évolution. C'est pourquoi il propose de les appeler *stathmocinèses*

Nous avons souligné déjà l'importance de la théorie de DUSTIN sur l'action excitomitotique de la colchicine. Auparavant on connaissait, en dehors des matières nutritives et de certaines substances d'origine végétale, telles que les *auxines*, très peu de corps ayant cette propriété de stimuler la division. On peut dire que la découverte de DUSTIN était de celles qui risquaient de révolutionner la Biologie.

B. — *Devenir des mitoses colchicinales*

On ne peut évidemment pas nier que, chez les animaux du moins, la phase première de stimulation est fugace et rapidement suivie d'une phase de dégénération nucléaire, de sorte que si la colchicine aux doses employées par l'auteur (25 mgr. environ par kilog. de poids) était capable théoriquement de provoquer une hyperplasie passagère, par augmentation brusque du nombre des cellules, en revanche la destruction de ces mêmes cellules devrait compenser immédiatement cette hyperplasie.

On n'a jamais dit, en tous cas, que la colchicine provoquait aux doses employées la croissance d'un tissu.

L'avenir des mitoses intoxiquées n'a été précisé que plus tard. En anticipant un peu sur les travaux ultérieurs, on peut dire que :

a) Ou bien la chromatine dégénère et la cellule meurt avant de finir sa division, l'anaphase et la télophase étant impossibles ;

b) Ou bien l'intoxication ayant été assez faible, le cycle mitotique peut se poursuivre, pour aboutir à deux noyaux-fils parfaitement normaux.

Plus souvent, dans ce cas, on observe des inégalités

de taille, des ponts de chromatine entre eux ou encore des micronoyaux, dus à la vésiculation de chromosomes isolés ou de groupes chromosomiques aberrants. Cela signifie que le processus de reconstitution nucléaire a surpris des chromosomes attardés et une division chromosomique en pleine irrégularité.

c) Une troisième éventualité, beaucoup plus rare chez les animaux, mais dont la cellule végétale donnera de magnifiques exemples, est la reconstitution sur place, à hauteur de la plaque équatoriale, d'un noyau formé par vésiculation des chromosomes, dont la forme est normale, la taille un peu plus grande peut-être, mais dont le stock chromosomique est double, puisque le clivage a eu le temps de se faire.

Nous retrouverons par la suite ces diverses anomalies que des botanistes, surtout, ont eu le mérite de mettre en lumière. Pour le moment, nous suivons les travaux de LITS et DUSTIN, qui s'attachèrent à l'étude des phénomènes de dégénération, que nous allons maintenant analyser.

C. — Où l'on retrouve l'excrétion sphérulaire

DUSTIN a observé qu'une heure après l'injection de colchicine à la Souris (25 γ), les mitoses de la zone germinative des glandes de Lieberkühn paraissent augmentée en nombre, avec les caractères déjà décrits des mitoses intoxiquées. Au même moment se produit dans l'intestin une exsudation séreuse abondante, qui aboutira par la suite à l'entérite toxi-hémorragique. A la 8^e heure, les mitoses colchiciniques dépassent largement leur zone normale de localisation (le collet des glandes de Lieberkühn) et deviennent si nombreuses que leur

cytoplasme gonflé finit par oblitérer la lumière glandulaire, où il fait saillie.

Au même moment commence à apparaître l'élaboration si curieuse de spérules nucléoïdes, que nous avons déjà rencontrée après action de la tryptaflavine. DUSTIN avait alors considéré l'excrétion sphérulaire comme due à la suspension de l'activité mitotique dans l'intestin grêle et, d'autre part, la tryptaflavine, comme arrêtant cette activité. Retrouvant les mêmes images sous l'effet de la colchicine, il continue à considérer celle-ci comme susceptible de stimuler la division. Il y a là une contradiction qui est à noter. Cependant LITS, frappé de la disproportion qui existe entre le nombre des mitoses bloquées dans l'intestin et dans la peau, interprète la présence des sphérules dans le tractus intestinal comme le témoin d'un fait général de régulation des nucléines, dont la muqueuse digestive pourrait être un exutoire exceptionnel. Il se base, pour appuyer sa théorie, sur l'absence d'observations semblables dans l'estomac et sur le fait que les mitoses colchiciniques dépassent la zone germinative normale. MAYER fait les mêmes observations et conclut de la même manière, en rappelant l'expérience de SCHRODER, qui constate, après injection de colchicine, l'augmentation de la désintégration d'acide urique dans l'intestin (où celle-ci s'élève à 100 %).

5° Analyse de l'action de la colchicine par Lits

Suivons pas à pas le premier travail complet sur l'action de l'alcaloïde, celui de LITS. Il utilise comme matériel la Souris blanche adulte, d'un poids moyen de 20 grammes, tuée par le chloroforme, dont les organes

sont fixés par le chromo-acéto-formol de DUSTIN. Les coupes sont colorées généralement par la méthode trichromique de Masson modifiée (hématoxyline ferrique, rouge ponceau de xylidine, vert Lumière). La dose la plus intéressante s'est montrée être de 25 mgr. de colchicine fraîche par Souris.

Etudions successivement les principaux organes pour y déceler les lésions :

1° Sang

A) *Leucocytose*. — Les recherches de LITS concordent dans leurs grandes lignes avec celles de DIXON et MALDEN, de BERCK, de LEVISON.

a) Dose de 5 γ . Après quelques oscillations pendant les premières heures, descendant parfois au-dessous du chiffre normal, le nombre des leucocytes s'élève progressivement, pour atteindre son maximum à la 7^e heure, puis revient lentement au chiffre normal, à la fin du 1^{er} jour. La courbe des polynucléaires suit celle des leucocytes et traduit une nette prédominance myéloïde;

b) Avec une dose de 25 γ , on n'observe pas de leucopénie, le maximum de la courbe se place à la 7^e heure et il y a une activation pathologique de toute la moelle avec mise en liberté de formes jeunes et immatures.

B) *Acide urique*. — Les variations de l'uricémie sont d'un ordre trop léger pour qu'on puisse établir une liaison entre la réaction cytologique et la spécificité d'action de la colchicine sur certaines maladies, où la désintégration nucléinique est élevée, comme la goutte. Le rapprochement fait par DUSTIN entre la goutte, trouble du métabolisme nucléinien et le cancer, trouble des

nucléines cellulaires, est une idée intéressante et séduisante, mais n'a guère entraîné de conséquences précises. D'ailleurs, il faut bien dire que la dose de 5 γ , qui crée des phénomènes caryoclasiques très faibles, provoque les mêmes modifications de l'acide urique qu'une dose beaucoup plus élevée et fortement caryoclasique. Les relations entre la colchicine, la leucocytose et le taux de l'uricémie restent encore à préciser.

2° *Thymus*

A) Dès une heure après l'injection, on y constate une poussée cinétique précoce et violente (il n'est plus question de temps de latence); les mitoses, dont un certain nombre sont de type colchicinique, paraissent d'aspect un peu différent, suivant que l'on considère les thymocytes (chromosomes courts et agglomérés) ou les thymoblastes (chromosomes longs, flexueux et bien individualisés). Mais ces deux types de mitoses sont connus comme normaux (PRENANT) et nous avons eu l'occasion de vérifier par nous-même que chaque type de cellule fait sa mitose avec son noyau particulier (de sorte que la mitose est plus ou moins allongée, si le noyau est elliptique, plus ou moins condensée, si la chromatine du noyau quiescent l'est aussi). Retenons seulement que, d'après LITS, les premières mitoses apparues après action de la colchicine sont considérées comme des mitoses d'aspect normal.

B) A la cinquième heure, les caryocinèses sont extrêmement nombreuses et réparties également dans la corticale ou la médullaire. *A peu près toutes sont altérées.* Les pycnoses, qui apparaissent déjà à la 2^e heure, sont beaucoup plus abondantes maintenant. Déjà les phago-

cytes viennent opérer leur travail de nettoyage des cellules lésées.

C) A la 8^e heure, les mitoses des thymocytes et des thymoblastes criblent littéralement le parenchyme thymique, *elles sont toutes en état de dégénération* et, à la 15^e heure, elles deviennent méconnaissables.

D) A la 21^e heure, la désintégration massive de la chromatine en pycnose donne au thymus une véritable bordure noire, granuleuse, formée de fragments de noyaux subissant la digestion phagocytaire dans cette zone riche en macrophages, et, à la 31^e heure, l'organe a l'aspect inversé classique.

E) Après une période assez courte d'hypoactivité divisionnelle (2^e jour), une nouvelle poussée mitotique s'amorce à la 116^e heure par des mitoses de cellules souches et devient intense au 6^e jour. C'est l'*onde tardive* de régénération, accompagnée d'une poussée pycnotique discrète et fugace.

3^o Organes lymphoïdes

On retrouve dans les *ganglions lymphatiques*, les plaques de Peyer et la rate, les mêmes phénomènes, qui se reproduisent avec un horaire identique. Dans les ganglions, la taille des cellules en division paraît plus grande et on n'observe jamais de mitoses dans les petites cellules lymphoïdes, ce qui est un argument en faveur de leur différence avec les thymocytes. Dans la *rate*, les chromosomes sont mieux individualisés et, à la 36^e heure, il se produit une onde mitotique intense parmi les mégacaryocytes, comme après l'action de la trypaflavine. La réaction des plaques de Peyer est d'autant plus tardive qu'on s'éloigne davantage du

pylore (peut-être en raison de l'élimination plus précoce de la colchicine dans les secteurs proximaux).

Dans l'ensemble, la réaction des organes lymphoïdes est plus atténuée que dans le thymus.

4° *Moelle osseuse*

Ici, la poussée mitotique des blastes médullaires *commence tard* et la pycnose apparaît dans les cellules de la moelle osseuse, alors que les chondroblastes voisins sont encore en mitose.

5° *Intestin*

En dehors de l'excrétion sphérulaire déjà décrite, nous trouvons dans l'épithélium intestinal des signes de choc caryoclasique, consistant en une congestion intense, des signes anatomiques de lésions du tissu conjonctif (œdème, congestion, hémorragies) et de l'épithélium (desquamation, décollement de la basale), correspondant à l'entérite, qui est cliniquement si évidente.

6° *Foie*

En dehors d'une congestion intense et durable, réaction d'intoxication assez peu spécifique, l'action du toxique se fait sentir *d'abord* sur les cellules de Küpfer et les leucoblastes infiltrés dans l'organe; plus tard et plus longuement, sur les cellules hépatiques elles-mêmes. Il faut noter que la constatation de mitoses dans celles-ci est particulièrement exceptionnelle, mais que DE WALSCHÉ et MAYER avaient observé cette action tardive après avoir fait agir le premier, la toxine staphylococcique, le deuxième, la trypanflavine. L'explication de cette dissociation dans le temps n'a pas été donnée, mais il nous semble facile de l'expliquer par l'affi-

nité spéciale des cellules de Küppfer pour toutes sortes de corps chimiques, d'où leur intoxication précoce par la colchicine.

Cette action est suivie d'une réaction réticulaire caractéristique, et de l'apparition de mégacaryocytes, dont la pathogénie est discutable. Se sont-ils formés par coalescence d'histiocytes, ou plutôt par caryodiérèses sans division protoplasmique ? Cette dernière explication est d'autant plus séduisante que les agents caryoclasiques peuvent — nous le verrons — empêcher la cytodiérèse sans gêner la division des noyaux. LITS rapproche de l'apparition de mégacaryocytes, l'altération des plaquettes sanguines et les troubles de la coagulation dus à la colchicine (COLEMAN).

7° *Pancréas*

Cinèses précoces ou tardives, colchiniques ou normales, s'observent d'abord dans le tissu conjonctif ou les canaux excréteurs, plus tard et plus rarement dans les cellules acineuses.

8° *Glandes salivaires*

On observe : dans le stroma, des mitoses à chromatine agglomérée, aboutissant à une pynose (probablement dans les cellules du système réticulo-endothélial), et dans les cellules glandulaires, d'autres cinèses à chromatine dissociée, aboutissant à une caryorrhexis. Encore une dissociation entre ces deux types de mitoses, entraînant chacun deux types différents de dégénération.

9° *Cœur*

Il n'y aurait rien de notable, si ce n'est l'apparition (relevée pour la première fois) de mitoses dans les fibres cardiaques elles-mêmes.

10° *Poumons*

Les divisions y sont tardives et apparaissent surtout dans les cellules à poussières et les traînées lymphoïdes péri-bronchiques.

11° *Reins*

Congestion et signes de glomérulo-néphrite associée accompagnent des signes de caryorrhexis, mais celle-ci est tardive (5^e heure).

12° *Surrénales*

On n'observe de mitoses que dans la corticale, contrairement à ce qu'a constaté VAN HEERSWYNGHELS par l'action de la trypaflavine.

13° *Ovaires*

Une onde hypercinétique, débutant à la 1^{re} heure et durant un jour entier, fait apparaître des mitoses dans la granulosa, la tchèque interne et le stroma ovarien, mais pas dans les corps jaunes. Normales d'abord, ces mitoses prennent rapidement l'aspect colchicinique.

A la fin du 1^{er} jour, s'installe la période de dégénération qui dure 30 heures environ; la chromatine, d'abord fortement sidérophile, diminue encore de colorabilité. Pendant ce temps, les follicules s'atrophient artificiellement et l'ovaire paraît contenir un grand nombre de follicules dégénérés, l'activité caryocinétique persiste mais très faible; dans la granulosa il y a des mitoses colchiciniques et des pycnoses, il y en a plus encore dans le stroma.

Enfin après une phase de repos, apparaît vers la 90^e heure une nouvelle série de mitoses tardives, dans le corps jaune cette fois, tandis que celles de la granu-

losa sont encore normales. Encore une poussée de « mitoses tardives », qui prouve, d'après LITS, les aptitudes variables que possèdent les cellules à répondre aux poisons caryoclasiques, mais qui pourrait aussi être en rapport avec des variations de l'activité cinétique suivant l'organe considéré (follicule ou corps jaune).

LITS se demande si l'action du toxique peut provoquer la division de l'ovocyte lui-même. L'influence de l'atrésie, qui peut faire apparaître des mitoses pseudo-parthénogéniques dans l'ovocyte mûr, doit être écartée, puisqu'on les retrouve dans les ovaires d'animaux impubères et même dans les ovocytes primordiaux.

14° *Autres tissus*

Tous ceux où existent des cellules en régénération peuvent obéir à l'action de la colchicine : couche basale de l'épiderme et de l'épithélium œsophagien, cellules des bronches et des glandes bronchiques, chondroblastes, bulbes pileux, cellules épithéliales des trompes, de l'utérus, du vagin, des vésicules séminales, montrent également une réaction à la colchicine.

15° *Tissus d'embryons et d'animaux jeunes*

Les masses chorio-placentaires chez des embryons de 6 mm., les tissus les plus divers sur des animaux âgés de 36 heures montrent une action excessivement rapide du toxique. On voit apparaître très tôt l'aspect de la mitose colchicinique à chromosomes agglomérés.

6° **Action de la colchicine suivant la dose**

Nous analyserons plus loin les diverses modalités des expériences, qui ont permis de connaître à fond l'effet de l'alcaloïde. Mais, d'ores et déjà, il est nécessaire de dire un mot des variations de l'action suivant la dose :

a) *Doses faibles* (5 γ), soit 0,25 mgr. par kilog. de poids corporel.

Comme on peut s'y attendre, les phénomènes caryoclasiques sont faibles. En revanche, la congestion est très accentuée et la moelle osseuse, bourrée de polynuécléaires. Cette discordance prouve bien que les deux ordres de faits sont indépendants.

b) *Doses fortes* (0,5 mgr.), soit 25 mgr. par kilog.

Cette dose, cent fois plus forte, produit des phénomènes clasiques précoces et les stathmocinèses apparaissent dans tous les organes. Mais la mitose dégénère par pulvérisation de la chromatine, au lieu de se détruire par pycnose. Ceci corrobore l'observation ancienne de DUSTIN, qui considérait la caryorrhesis comme un mode de réaction de l'organe à une agression toxique violente.

c) *Doses très fortes* (0,1 mgr.), soit 5 mgr. par kilog.

Ici, un fait nouveau d'une très grande importance: *l'élévation de la dose n'est pas en rapport avec l'augmentation de l'effet caryoclasique*. Sans doute, l'onde mitotique apparaît, mais elle est *moins généralisée et moins intense* dans la plupart des organes. Enfin, après la 12^e heure, la moelle, peu hyperérémisée, est en quelque sorte sidérée. L'intoxication aboutit rapidement à la mort.

II. - Critique des conceptions de Dustin et Lits

Avant de pousser plus loin l'étude des travaux sur la colchicine, il faut examiner attentivement les documents que nous possédons déjà. Nous avons assez l'éléments pour faire cette critique des résultats obtenus et nous passerons ensuite à l'étude des recherches ultérieures.

1° Que signifie la leucocytose colchicinique?

Est-elle un argument

en faveur de l'action excito-mitotique?

La leucocytose colchicinique, étudiée par DIXON et MALDEN, BECK, LEVISON et LITS, a été d'abord considérée comme due à la contraction de la rate et des ganglions, par action vagomimétique de la colchicine, puis comme en rapport avec un chimiotactisme négatif des leucocytes vis-à-vis du poison. Mais l'existence d'une leucopénie initiale suggère que c'est plutôt un phénomène réactionnel secondaire, la baisse des globules blancs étant elle-même due à la destruction pure et simple de ceux-ci ou à la concentration de ces cellules dans les capillaires lymphatiques et pulmonaires.

De toutes façons, il reste que le mécanisme de cette poussée leucocytaire est encore inconnu et qu'on ne peut, d'une façon certaine, le relier à une hyperplasie médullaire, qui se montre faible et d'ailleurs tardive.

Il est impossible d'en faire un argument en faveur de l'action excito-mitotique de la colchicine.

2° Le fait qu'on observe beaucoup de mitoses dans un champ microscopique ne prouve pas qu'elles soient augmentées par stimulation de la division.

Suivons pas à pas les conclusions de LITS lui-même :

a) Les premières mitoses observées sont normales et non dégénérées ;

b) Le nombre des mitoses dégénérées augmente avec le temps ;

c) Toutes ces mitoses sont en métaphase ;

d) Quand les pynoses se sont généralisées et que la phagocytose a déblayé les débris, il y a une phase de repos mitotique, assez brève d'ailleurs ;

e) Enfin apparaît une deuxième onde de mitoses, qui se place généralement entre la 90^e et la 140^e heure. Cette onde est beaucoup moins vive que la première.

Qu'est-ce que ces faits signifient ?

a) Une chose est certaine, c'est que la colchicine n'a pas agi d'emblée en faisant dégénérer les cellules en division. Autrement, les premières observées ne seraient pas normales ;

b) S'il y avait excitation de la mitose, l'augmentation du nombre des cellules en division devrait se faire d'un seul coup et non progressivement. Dans ce cas, c'est que l'action toxique fait de mieux en mieux sentir son effet ;

c) Pendant cette phase d'augmentation, il faudrait qu'un beaucoup plus grand nombre de cellules se montrent au stade de la prophase. Si ce fait s'observait, il ne serait pas à lui seul une preuve de la stimulation, mais il faudrait bien qu'on puisse le surprendre pour

affirmer cette dernière. Or, il n'en est question nulle part;

d) Les phénomènes de dégénération, si importants et si précoces (2^e et 3 heure) dans le thymus, sont incompatibles avec l'idée d'une stimulation se produisant au même moment.

Pas plus pour un tissu normal que pour une coupe d'épithélioma par exemple, le nombre de mitoses (d'ailleurs anormales) observées dans un champ microscopique à un moment donné, ne prouve nullement que ce tissu prolifère. Au contraire, beaucoup d'anatomopathologistes pensent que c'est un indice de nécrobiose.

3° L'aspect de la mitose colchicinique

Nous avons décrit, d'après DUSTIN, les caractères de ce qu'il appelle la mitose colchicinique. Mais s'agit-il vraiment encore d'une mitose? Le groupe des chromosomes agglomérés ayant l'aspect d'une masse très colorable, presque pycnotique, ne peut tout de même pas être considérée comme un vrai stade de division. Ces images correspondent déjà à un état de dégénérescence plus ou moins avancé, qu'on ne peut pas assimiler à l'un des stades de la division normale.

Pour savoir exactement ce qui se passe, il faudrait étudier les mitoses beaucoup plus tôt, immédiatement après l'injection, afin de prendre sur le vif, en quelque sorte, le début d'action du toxique. Mais l'existence de « stathmocinèses », telles que les décrit DUSTIN, ne saurait nous renseigner à cet égard.

4. — AUTRE CONCEPTION DE L'ACTION DE LA COLCHICINE

Au cours de nos lectures, nous avons pu constater que la plupart des auteurs n'admettaient pas sans de pru-

dentes réserves l'existence d'une excitation de la prolifération cellulaire. Qu'il s'agisse de poisons, de radiations ou même d'auxines, il est très difficile d'apporter les preuves de cette stimulation et encore celles-ci sont-elles fragiles.

Essayons de voir si on peut expliquer autrement les faits observés.

a) Le mot qu'il faut prononcer ici est celui d'accumulation. S'il y a dans les coupes, les frottis ou les étalements, un nombre si considérable de caryocinèses et si ce nombre s'accroît à mesure que de nouvelles cellules entrent en division, c'est que ces dernières y restent longtemps, autrement dit que le mécanisme de la mitose est fortement ralenti ou arrêté. Les images de DUSTIN peuvent s'expliquer aussi bien par un retard ou une inhibition que par une excitation;

b) Cette accumulation n'est pas indéfinie. Elle peut s'arrêter, soit parce que la drogue a cessé d'agir, soit parce que les cellules qui restent ne peuvent plus se diviser (cas des organes très différenciés), soit parce que les prophases elles-mêmes finissent par s'arrêter;

c) Si ces prophases restent en quantité normale ou subnormale, l'accumulation apparaît, mais si elles diminuent ou disparaissent, l'accumulation cesse à partir du moment où elles deviennent insuffisantes en nombre. C'est ainsi qu'on peut expliquer ce résultat, en apparence paradoxal, de *l'action en apparence moins énergique des doses les plus fortes*.

Pour le moment, nous n'apportons pas de preuves. Celles-ci viendront à leur moment. Mais nous voulons, dès maintenant, faire entrevoir par anticipation com-

ment le problème peut se résoudre. Et nous comprenons ainsi pourquoi tous les organes ne sont pas également atteints (sensibilités différentielles), pourquoi les doses fortes n'agissent pas aussi bien que les doses moyennes et pourquoi l'action d'accumulation s'arrête assez rapidement.

III. - Analyse plus détaillée du mode d'action

1° Variations de la porte d'entrée et variations apportées aux expériences

a) La *voie sous-cutanée* a été utilisée par la plupart des expérimentateurs comme étant la plus commode. Mais elle agit lentement;

b) La *voie intra-veineuse* est beaucoup plus rapide. Employée chez la Souris par VILTER, elle a pu donner des anomalies mitotiques un quart d'heure à 20 minutes après l'injection, ce qui est très précieux, puisque cela permet d'éliminer à coup sûr les modifications que la colchicine peut subir à l'intérieur de l'organisme;

c) La *voie intra-péritonéale* est très utile chez de petits animaux, des Batraciens, par exemple. Elle a été délaissée au début par DUSTIN, en raison des objections théoriques, dues aux réactions propres de la séreuse péritonéale. Ces objections ont été dépassées;

d) La *voie transcutanée* par frictions, onctions, pomades, a été utilisée par LITS et a montré d'une part que la diffusion dans tout l'organisme se faisait aussi bien par cette voie (puisque le thymus et l'intestin sont le siège d'un choc Caryoclasique assez net), et, d'autre part, que la peau est sensible à la colchicine, surtout

dans sa couche germinative et ses follicules pileux. Particularité assez remarquable, l'agglutination des chromosomes dans les figures de division n'apparaît pas dans l'intestion. Au contraire, ceux-ci restent dissociés et « poudreux »;

e) La *voie entérale* agit aussi bien sur le foie (cellules de Küppfer surtout), où l'on trouve des mégacaryocytes, que sur l'intestin, qui nous montre un grand nombre de mitoses; l'activité divisionnelle est nettement allongée dans le temps à l'intérieur de l'épithélium digestif;

f) L'*ionophorèse*, pratiquée par Ickowicz, pour les arsenicaux et les sels de nickel ou de cobalt, n'a pas été utilisée pour la colchicine.

2° Variations du solvant

Les solutions employées sont généralement des solutions aqueuses. Mais comme la colchicine diffuse assez rapidement dans l'organisme, il reste la possibilité, pour augmenter son action locale aux dépens de sa diffusion, d'utiliser des solutions huileuses. Nous y revenons plus loin.

Enfin, il est possible de se servir de colchicine en poudre en applications externes.

3° Variations d'une solution de colchicine en fonction du temps et de l'exposition à la lumière.

La solution aqueuse de colchicine obéit aux lois générales des transformations spontanées subies par beaucoup de corps chimiques dissous. Primitivement incolore, elle ne tarde pas à devenir légèrement jaunâtre, sous l'action du temps et de la lumière.

Dans cette solution ainsi dénaturée, JACOBJ est parvenu à isoler un nouveau produit à l'état pur, qu'il a pu obtenir par ailleurs sous l'action de l'oxygène ou de l'ozone naissants. Cette substance amorphe, rouge brun, soluble dans l'eau et l'alcool, mais moins dans le chloroforme que la colchicine, précipite de ses solutions plus facilement par l'éther de pétrole.

Il s'agit de l'oxy-di-colchicine, de forme ($C^{22}H^{25}NO^6$), nouvel alcaloïde physiologiquement beaucoup plus actif sur la Grenouille. Au lieu de 30 à 50 mgr. de colchicine, il suffit de 5 mgr. d'oxy-di-colchicine pour aboutir à une intoxication mortelle, analogue à celle qui est provoquée par la vératrine. Mais chez l'homéotherme, au contraire, l'action des deux corps est sensiblement la même, d'où l'hypothèse émise par JACOBJ que la colchicine agit sur les animaux à sang chaud en se transformant en oxy-di-colchicine. Or, on trouve le dérivé oxydé dans le rein des Mammifères après perfusion, non dans celui de la Grenouille après injection. Mais si on porte les Grenouilles à l'étuve, elles manifestent immédiatement des signes d'intoxication grave, regrettant si on les remet à la température normale.

Si on utilise les oxydants plus énergiques, tels que le mélange acide chromique ou iodure de K + acide sulfurique, on peut obtenir de l'oxy-colchicine beaucoup moins active que la colchicine elle-même.

D'autres dérivés ont été étudiés, que l'on trouvera dans les travaux de JACOBJ, FUHNER et LIPPS. D'une façon générale, ils perdent leur activité quand ils sont désacétylés; d'autre part, on ne peut attribuer aucune action directe au noyau phénanthrène, qui se montre inactif quand il est isolé.

De l'étude des modifications de la solution aqueuse par vieillissement, nous sommes donc ramenés aux modifications de la structure chimique de la colchicine et nous arrivons à l'étude des dérivés voisins de celle-ci, qui apparaissent dans cette solution dans des conditions complexes.

Par hydrolyse, on obtient la colchicéine de formule $C^{21}H^{22}NO^5$, plus active que la colchicine.

Voici les conclusions très importantes de Lits concernant cette série de dérivés :

a) Le pouvoir de la colchicine sur la mitose décroît avec le vieillissement;

b) Il décroît d'autant plus vite que la solution est exposée à la lumière;

c) Il augmente d'abord pendant les deux premières semaines;

d) Pendant la première semaine, cet accroissement est indépendant du procédé de conservation;

e) La différence entre la colchicine exposée et non exposée s'affirme après la seconde semaine, elle est très nette à la fin de l'expérience;

f) Une solution conservée 13 mois à l'abri de la lumière a perdu 20 % de ses propriétés vis-à-vis du thymus et 50 % pour la rate;

g) Cette solution, non exposée, se stabilise aux environs de la cinquième semaine;

h) La colchicéine est plus active que la colchicine vieillie et exposée;

i) L'action tardive de la colchicine exposée à la lumière sur la mitose est moins atteinte que son action rapide jusqu'à la cinquième semaine;

j) Le thymus reste l'organe le plus sensible.

Les conséquences pratiques de ces observations sont importantes: d'une part, il est du plus haut intérêt de n'utiliser dans les expériences que des solutions *fraîches*, ainsi que d'ailleurs en thérapeutique humaine; d'autre part, il faut dire qu'après plusieurs mois de conservation à la lumière, la colchicine fait encore apparaître un choc caryoclasique important.

Notons enfin que la colchicéine, plus active que la colchicine vieillie, l'est moins que la solution fraîche (LITS).

4° Variations du matériel biologique utilisé Action sur les animaux

1° Protozoaires et Protistes

L'étude des êtres unicellulaires pouvait apporter *a priori* des renseignements précis sur la manière dont se comporte le toxique sur des organismes très simples.

A) FLAGELLÉS.

a) *Travaux de GAVAUDAN et KOBOZIEFF sur Chlamydomonas sp.*

Chez ces êtres, dont la multiplication se fait par formation de sporanges et dont les auteurs ont étudié la sporulation, on retrouve après action de doses élevées (0,5 et 1 p. 1000) des altérations qui sont à rapprocher de celles qu'on observe chez les Végétaux et qui s'éloignent par conséquent de celles des animaux plus élevés en organisation. Quoique les doses utilisées aient été destinées à observer l'arrêt de la caryocinèse, on aboutit à des altérations assez ménagées: on retrouve l'altération du fuseau, les troubles de la division nucléaire avec

inégalité de répartition de la chromatine et les troubles de la cytodierèse, qui aboutissent à une inégalité de répartition des inclusions cytoplasmiques. Les spores formées à la suite de ces divisions sont inégales de volume, en nombre parfois moins élevé et peuvent présenter des ponts de chromatine entre leurs noyaux.

b) *Travaux de VANDENDRIES et GAVAUDAN sur Euglena gracilis.*

Les auteurs, ayant utilisé les mêmes doses, n'ont observé aucune action sur les cultures.

B) LEVURES. — *Saccharomyces cerevisiæ*.

a) O.-W. RICHARDS (1938).

Avec des doses très diverses, échelonnées de 1/1000.000^e à 1/2 pour 100, cet auteur a travaillé dans des sens divers :

I) En espérant voir plus facilement des mitoses dans les levures en bourgeonnement (car on n'est pas certain d'avoir pu observer chez ces êtres unicellulaires une division analogue à la caryocinèse). Cet espoir a été déçu.

II) En cherchant si la colchicine stimule le développement des levures, développement qui aurait été obtenu avec certaines doses (1 pour 100).

b) C.-M. LAUR (1938).

Le noyau des levures étant petit et difficile à mettre en évidence, l'auteur a utilisé la méthode de simples numérations des spores dans les asques. Etudiant ainsi la levure, à la fois en milieu d'inanition (sporulation) et en milieu de nutrition normale, il n'a observé ni activation de la vitalité, ni excitation de la sporulation en

général, ni gigantisme cellulaire, ni dégénérescence graisseuse (qui pourrait se voir chez les levures).

c) GAVAUDAN (1939)

avec des doses variant de $1/100^e$ à $1/1000^e$, n'a obtenu aucun effet.

RICHARDS et GAVAUDAN estiment tous deux que ces résultats n'ont d'ailleurs aucune valeur probante, parce que la colchicine peut être utilisée ici comme aliment et dégradée par ces êtres très simples, parce que des substances neutralisantes ou insolubilisantes peuvent apparaître dans le milieu, ou parce que la levure possède peut-être un mode de division plus simple que la mitose.

C) BACTÉRIES.

a) VENDENDRIES et GAVAUDAN

ne constatent pas d'inhibition du développement.

b) OBATON,

expérimentant, sur *Photobactérium phosphoréum*, bactérie lumineuse émettant une lumière verdâtre en présence d'oxygène, fait des constatations plus intéressantes. Il se sert de bouillon additionné de colchicine dans la proportion de 0,05 pour 100.

Il observe une évolution accélérée dans le tube contenant de la colchicine et l'apparition dans ce même tube d'une luminescence, plus rapidement que dans les témoins.

Que se passe-t-il? Le toxique accélère-t-il le développement ou excite-t-il seulement le pouvoir lumineux? Si la première hypothèse est la bonne, les bactéries doivent être plus nombreuses; or, elles le sont. Là aussi, il est permis de penser que l'alcaloïde agit peut-être

indirectement, en modifiant le milieu de culture, ou comme un aliment pour les bactéries.

Il faut donc retenir de cette expérimentation sur des êtres inférieurs qu'elle ne peut nous apporter aucune idée décisive sur la question. C'est d'ailleurs un matériel peu favorable à l'étude de la division cellulaire.

2° Métazoaires

Il en est autrement des Métazoaires.

A) *Invertébrés*. — Chez des Mollusques pulmonés Stylommatophores (*Helix hortorum* et *Arion Rufus*), LITS a observé des cinèses dans l'intestin et le spermo-viducte, ainsi que dans l'épithélium digestif cilié.

Cette expérience n'a d'autre intérêt que de montrer la généralité de l'action sur la mitose.

B) *Amphibiens*. — La plupart des Batraciens constituent un excellent matériel, en raison du grand nombre d'individus que l'on peut se procurer, de la facilité de leur étude, de la grosseur de leur cellule et de la lenteur de sa division. DELCOURT, puis BUREAU et VILTER ont étudié le comportement de la larve d'Amblystoma ou Axolotl. C.-M. LAUR a étudié l'action sur des œufs et des têtards de Rana. Nos recherches personnelles ayant été faites grâce à des Batraciens, nous reviendrons par la suite sur cette question.

C) *Oiseaux*. — Le Pigeon a servi aux endocrinologistes américains LEBLOND et ALLEN, pour étudier l'action de la prolactine sur le jabot, l'embryon de Poulet, aux travaux de tératologie expérimentale d'ANCEL, et S. LALLEMAND, DE PAFF. Enfin, ARVY et CARIPROIT ont étudié l'action de l'alkaloïde sur des Poules, après

déplumage, quinze jours auparavant, l'une région limitée du dos.

Retenons seulement, en raison de leur caractère un peu spécial, les travaux de ces derniers auteurs. Avec des doses fortes (1200 mgr. par kilog. de poids corporel), répétées deux fois, la première injection est suivie de chute des premiers bourgeons survenus après arrachage des plumes; à la deuxième, les bourgeons de remplacement sont déjà en voie de formation et l'extrémité des plumes blanchit. Avec des doses moyennes (750 γ), la colchicine déclenche une mue généralisée chez un animal castré et splénectomisé. Avec des doses faibles (550 γ), un seul des animaux présente des modifications de plumage: ses plumes sont plus grêles, le pigment y est plus réduit, leur forme est anormale. Ces troubles de la mélanogénèse n'ont pas reçu d'explication.

La toxicité générale de l'alcaloïde est beaucoup plus forte pour les Oiseaux que pour les Batraciens, mais moins forte que pour les Mammifères.

D) *Mammifères*. — Ce groupe a fourni à DUSTIN la plus grande partie de ses animaux d'expériences, sous forme de Souris. BASTENIÉ et ZYLBERSZAC ont utilisé des Cobayes. Les réactions des Mammifères changent peu, suivant l'espèce considérée.

5° Variations du matériel biologique utilisé

Action sur les Végétaux

DUSTIN, lui-même, a eu, dès 1937, l'idée d'utiliser les Végétaux comme matériel d'expériences, se rappelant que les alcaloïdes ont été parfois considérés comme des phytohormones (HAVAS) et qu'ils se localisent volontiers dans les *zones germinatives*. Comme chez les animaux,

il interprète les faits comme dus à l'activation de la division par la colchicine, bien que son action soit suivie indiscutablement d'arrêt et de stérilisation de la zone germinative; il remarque aussi que les doses fortes arrêtent la croissance et que les chromosomes restent individualisés, sans s'agglomérer, comme chez les Vertébrés à sang chaud.

La même année, GAVAUDAN, faisant les mêmes expériences et employant des doses relativement fortes (0,20 pour 1.000), par rapport à celles de DUSTIN, constate des anomalies mitotiques nombreuses et précises, sans signes de stimulation; il conclut que l'action excitomitotique de l'alcaloïde reste à prouver.

Plus volumineuse et de structure plus facile à observer, la cellule végétale se prête mieux que la cellule animale aux études de cytologie fine. Rien d'étonnant à ce qu'on ait pu, en utilisant ce matériel biologique favorable, apporter de très importantes notions sur le mode d'action de la colchicine et préciser le détail de son mécanisme. C'est pourquoi les recherches faites sur les Végétaux ne peuvent absolument pas être dissociées des autres, et d'ailleurs leurs conclusions ont été de la plus haute importance pour la suite de l'expérimentation.

D'innombrables auteurs ont, après DUSTIN, utilisé la cellule végétale; citons seulement, en France, GAVAUDAN, qui a bien décrit les anomalies nucléaires; MANGENOT et GARRIGUES, dont la méthode statistique a permis de mieux préciser les modifications des phases mitotiques; BLAKESLEE, qui a étudié la polyploïdie expérimentale et ses applications pratiques; SIMONET, qui a comparé la colchicine à de nombreux corps chimiques plus ou moins voisins; LEFÈVRE, DUHAMET, PIETTRE, VILLARS.

Les procédés utilisés pour mettre en contact le toxique avec les cellules végétales ont beaucoup varié : immersion de racines ou de graines dans une solution de colchicine dans du liquide de Knop, badigeonnage des tiges ou des inflorescences avec une solution aqueuse, onction avec une pommade ou une pâte, injections intratissulaires, tout a été essayé. Mais la plupart des travaux se rapportent soit à l'accroissement de la tige, soit à la germination de la graine, soit à l'action sur les cellules mères des grains de pollen.

Si nous prenons l'exemple des racines, habituellement placées dans une solution colchicinée de titre variable, voici ce que l'on observe :

1° *Macroscopiquement*, la croissance des racines est retardée, mais non arrêtée, comme le prouve la continuation de l'absorption d'eau ; une augmentation de volume de la zone subterminale, qui gonfle cette région à la manière d'une tumeur, est un fait assez constant, qu'il faut se garder d'interpréter comme dû à une action stimulante sur le développement cellulaire.

2° Mais les *constatations microscopiques* sont plus importantes. Voici comment on peut les schématiser, d'après l'ensemble des auteurs qui ont étudié cet intéressant problème.

A) *Action sur le nombre des mitoses*

Après une courte phase où il est normal, le nombre des mitoses observées chez les végétaux colchicinisés baisse régulièrement et son pourcentage diminue, par rapport au nombre total des noyaux. L'activité cinétique n'est donc pas accélérée, mais progressivement réduite.

B) *Action sur la prophase*

A de certaines doses tout au moins et au début de l'action, le nombre des prophases augmente, de sorte qu'on peut se demander si la colchicine n'a pas agi, comme le veut DUSTIN, en provoquant dans un premier temps l'entrée en division des cellules qui y étaient prêtes. L'augmentation du nombre (relatif) des prophases, qui s'abaissera par la suite, peut tout aussi bien s'expliquer par un allongement de leur durée, ce qui fait apparaître dans le champ microscopique un plus grand nombre de ces phases au même moment. C'est d'ailleurs l'opinion de GARRIGUES, par exemple. Mais l'action du poison est ménagée, lente et progressive, l'inhibition n'est certainement pas instantanée. Ces prophases dont d'aspect parfaitement normal, et il n'est pas possible d'observer des anomalies de leur aspect morphologique.

C) *Action sur la métaphase*

Alors que la métaphase est un des stades les plus brefs dans les conditions normales, c'est elle, ou du moins un état très analogue de la cellule, qu'on rencontre avec la plus grande fréquence dans les noyaux en mitose colchicinique. Les stathmocinèses sont en nombre si élevé qu'il ne peut exister aucun doute sur l'action du blocage atteignant son maximum au moment de la prémétaphase. A ce stade, les chromosomes sont disposés sans ordre dans une zone voisine de l'équateur, mais sans l'aspect étoilé de la plaque équatoriale, ils sont associés par paires, tantôt rigoureusement parallèles, tantôt séparés par incurvation de leurs extrémités, tantôt en X, en Y ou en croix, fait que GAVAUDAN

explique par l'accentuation de la constriction cinétique par le toxique. Enfin, ils sont raccourcis, contractés et épaissis; le fuseau est toujours absent.

D) *Action sur la télophase*

Des trois éventualités qui se présentent pour une cellule en stathmocinèse, la plus fréquente chez les Animaux, la dégénération du noyau, s'observe moins souvent chez les Végétaux. Peut-être faut-il attribuer ce fait à la moindre toxicité pour ceux-ci d'une substance d'origine végétale, qui a pu être considérée, nous l'avons vu, comme un véritable « phytohormone ».

Aussi les conditions habituelles de la reconstitution du noyau sont-elles représentées soit par la formation d'un seul noyau polyploïde, soit par la naissance de deux noyaux-fils plus ou moins anormaux.

a) *Formation d'un noyau polyploïde.*

Le noyau se reconstitue par alvéolisation des chromosomes sur place. C'est ce qu'on appelle la « stathmotélophase », caractérisée par la persistance de la forme des chromosomes déjà alvéolisés, de sorte que la fin de la division, si anormale à tant d'égard, subit en outre un ralentissement, qui la rend plus ou moins incomplète. Le noyau reconstitué est irrégulier, polylobé, profondément incurvé et comme déchiqueté. Comme il s'est reformé avec des chromosomes déjà clivés pour une impossible anaphase, il contient un stock double de chromatine nucléaire: il s'agit donc d'un noyau tétraploïde au moins. Si des mitoses, analogues à la première, doublant chaque fois le nombre des chromosomes, arrivent à se succéder dans le temps, grâce à une action toxique prolongée, on conçoit que la quantité de chro-

matine peut augmenter presque indéfiniment et l'on peut obtenir des monstruosité nucléaires du type octoploïde et des noyaux géants.

b) *Formation de deux noyaux plus ou moins anormaux.*

GAVAUDAN a décrit des pseudo-anaphases en quadrilatère, en couronne, en corbeille, qui aboutissent, au moment de la reconstitution nucléaire, soit à un seul noyau annulaire ou en croissant, soit à deux noyaux unis; d'autres fois, les deux groupes de chromatine sont bien individualisés, mais un pont de substance nucléaire se trouve formé par des chromosomes attachés au voisinage de l'équateur, et l'on obtient ainsi des noyaux réunis par un pont plus ou moins large, d'où les aspects d'amitoses (ou de pseudo-amitoses), décrits par les auteurs.

Enfin, dans ces diverses éventualités, on observe des nucléoles nombreux et parfois monstrueux, ce qui confirme la théorie de HEITZ sur le rapport étroit qui existe entre la fixité des chromosomes et la genèse des nucléoles.

E) *Action sur la taille et la forme des noyaux*

Malgré la diminution de l'activité mitotique et peut-être à cause d'elle, le volume des noyaux quiescents augmente d'une façon régulièrement progressive, jusqu'au 7^e jour, où elle se stabilise. La colchicine agit donc en arrêtant la prolifération des cellules, mais ni leur hypertrophie, ni leur allongement, d'où persistance de la croissance et tuméfaction de la racine.

F) *Généralités sur le mécanisme d'action*

Aussi résumée qu'elle soit, cette rapide revue de l'action de la colchicine en cytologie végétale nous apporte des renseignements très intéressants. De nombreux auteurs ont suggéré qu'elle arrête la formation du fuseau en empêchant les changements de viscosité du protoplasme. Nous verrons comment l'étude d'autres carbures mito-inhibiteurs nous donnera des précisions sur ce point. D'ores et déjà signalons que l'inhibition du fuseau de caryocinèse et le trouble apporté à la division protoplasmique ou cytodiérèse sont des faits connexes, en relation tous deux avec des modifications des propriétés physiques du gel cytoplasmique. La conception de BATAILLON sur le mécanisme de la mitose s'accorde bien avec ces faits. D'après celle-ci, la métaphase, moment de perméabilité cellulaire maximum, est aussi celui où la cellule élimine des déchets et où les chromosomes sont en quelque sorte refoulés dans la région équatoriale, plus fluide que les formations astériennes; ce stade passé, l'action change de sens. Il suffit que cette fluidité plus grande soit prolongée pendant quelque temps pour que l'action de la colchicine s'éclaire. Et remarquons bien que la réfringence d'un halo entourant les chromosomes a été notée par tous les chercheurs. N'est-ce pas l'indice d'une modification de viscosité? GAVAUDAN, BEAMS et KING ont essayé d'appliquer à ce problème la méthode des centrifugations; ils ont bien observé des différences de poids spécifique entre noyaux et fuseaux, mais, jusqu'ici, n'ont pu pousser plus loin leur analyse. Enfin, retenons des travaux faits sur les Végétaux que, si la colchicine semble n'avoir aucune action sur le chondriome, en revanche,

la différenciation cellulaire est accélérée; c'est ainsi que le méristème des racines est transformé en une sorte de tumeur, formée de cellules qui perdent leurs caractères embryonnaires, se différencient comme un tissu quelconque et continuent à se nourrir activement sans se diviser, de sorte qu'elles s'hypertrophient, tandis que la coiffe s'exfolie. Le pouvoir de différenciation s'accroît quand le pouvoir de division et de prolifération disparaît; c'est une loi biologique générale, qui trouve ici son application.

6° Réflexions sur ces nouveaux faits expérimentaux

Voilà que brusquement les faits s'éclairent, parce que les auteurs qui ont étudié l'action sur la mitose végétale se sont adressés à un matériel biologique favorable, où l'on pouvait facilement analyser les causes des anomalies obtenues. Les images de stathmocinèse observées par DUSTIN étaient donc des images d'intoxication trop brutale pour qu'on puisse en déduire un mécanisme particulier d'action.

Cependant, l'absence de fuseau, la présence d'un halo clair autour des chromosomes, mieux encore les différentes variétés d'aspects observés, coïncident avec les images obtenues chez les Végétaux.

Mais pour mieux comprendre l'enchaînement logique des modifications qui empêchent la division de se dérouler normalement, il faut reprendre le problème, en essayant de saisir par de nouvelles expériences les premiers en date des signes d'intoxication cellulaire. Il faut donc s'adresser à des animaux chez lesquels la cellule est suffisamment facile à observer et la mitose suffisamment lente, pour qu'on puisse penser en tirer une solution satisfaisante du problème.

7° Nouvelles recherches sur l'action de la colchicine chez les Batraciens

Les travaux des pharmacodynamistes qui avaient utilisé les Batraciens pour étudier la toxicité de l'alcaloïde, avaient démontré la moindre sensibilité de ces animaux. Mais si DUSTIN s'en était servi pour ses premières expériences sur le thymus, il les avait abandonnés ensuite, pour des raisons que nous avons exposées. Cependant, un tel matériel présentait deux avantages majeurs : la grande taille des cellules et la lenteur de la division cellulaire, qui permettaient d'analyser plus facilement le détail des phénomènes.

Deux groupes de travaux ont comblé cette lacune : ceux de DELCOURT et ceux de BUREAU et VILTER.

A) Travaux de DELCOURT

Utilisant d'abord la Grenouille (*Rana fusca*, Thomas), traitée par une injection d'un 1/2 mgr. de colchicine, dose très élevée si on la compare à celle utilisée chez les Mammifères de poids correspondant. DELCOURT retrouve un certain nombre de faits décrits auparavant, mais il ajoute aussi des constatations nouvelles et intéressantes.

a) Confirmation des faits acquis.

L'existence d'ondes de mitoses et de pycnoses, particulièrement dans le thymus, les réactions différentielles de l'appareil digestif, où le nombre des divisions observées décroît régulièrement du pylore au cloaque, l'intensité de la réaction colchicinique dans les zones soumises à des stimulations hormonales (callosités chez le mâle en amour), l'absence de mitoses parthénogéniques

dans les ovocytes, alors que l'œuf non fécondé de *Rana* est si favorable à la parthénogenèse expérimentale, l'augmentation de toxicité par élévation de température, tout cela n'apporte rien d'essentiellement nouveau.

b) *Acquisition de faits nouveaux.*

En dehors de la moindre toxicité de l'alcaloïde chez les animaux à sang froid, toxicité que l'on peut d'ailleurs exacerber par la chaleur, c'est surtout l'existence, au début de l'action, d'une phase, durant 10 à 20 heures, pendant laquelle l'activité cinétique fléchit par destruction des mitoses après leur condensation par la colchicine, en même temps qu'apparaissent d'assez nombreuses pycnoses.

A cette phase, fait suite une période d'hypercinétose, ayant son maximum vers le deuxième jour, où les mitoses se montrent en stathmocinèse condensée. Les macrophages reprennent ensuite leurs fonctions de nettoyage des résidus nucléaires. Enfin, une deuxième onde cinétique s'élabore au quatrième jour. Voilà donc que l'effet primordial observé n'est plus l'augmentation, mais la *diminution de l'activité divisionnelle* et l'excitation de l'imminence caryocinétique n'apparaîtrait plus qu'en second lieu. C'est le renversement de la conception primitive proposée par DUSTIN. Ajoutons une remarque: si, pendant la première phase, toutes les mitoses sont colchicinales, c'est-à-dire de type condensé, la seconde phase d'hypercinétose se caractérise par un polymorphisme beaucoup plus grand, où les chromosomes déliés et flexueux, les mitoses pluricentriques, ne sont pas rares.

En essayant de préciser le mécanisme de ces troubles mitotiques, l'auteur observe que le nombre des figures où les groupes de chromosomes sont dédoublés (c'est-à-dire les anaphases), décroît au profit des aspects monastériens, c'est-à-dire que l'aster développe quelques irradiations et reste unique, la plaque équatoriale s'incurvant alors en calotte sphérique, sous-tendue par l'aster. Cette image n'est possible que dans le cas d'une intoxication relativement faible; si l'action toxique est très énergique, la formation du fuseau est totalement inhibée et la chromatine ne peut que dégénérer. D'ailleurs, ces images ne s'observent qu'avec une dose de 0,25 milligr. de colchicine, doses assez faibles pour la Grenouille.

Les Urodèles se comportent d'une façon un peu différente. Chez la Salamandre adulte se succèdent une baisse graduelle de l'activité divisionnelle (40 premières heures), une première onde de mitoses colchiciniques (43° à 120° heure), une seconde phase hypocinétique avec pycnoses, enfin une 4° phase mitotique à la 180° heure.

L'animal le plus favorable à l'étude du mode d'action est, sans contredit, l'Axolotl. Cette larve d'*Amblystoma Tigrinum* Tsch. est, en raison de sa grande taille et des facilités que comporte son élevage, le matériel de choix pour cette étude. Après injection de colchicine, il montre d'abord une légère accumulation mitotique pendant les dix premières heures, affectant surtout les organes lymphoïdes (rate, couche lymphoïde du foie). A ce moment, il y aurait une abondance anormale de prophases, ce qui voudrait dire que l'activité du toxique se bornerait à son effet stimulateur. Au cours de la deuxième période, le nombre des prophases diminue un peu, tan-

dis que celui des métaphases augmente progressivement et que l'index mitotique fléchit.

Ce qui frappe surtout l'observateur dans l'examen de ces résultats, c'est l'action de la colchicine sur la rate de l'animal: le nombre des mitoses y est tellement élevé (1480 par champ), les cellules en division tellement serrées, qu'elles constituent la presque totalité des cellules de l'organe, toutes les divisions étant caractérisées par l'absence de fuseau. On peut dire que 90 à 95 % des cellules blastiques sont arrêtées au stade de métaphase, sans qu'on observe d'altérations plus poussées. Cet aspect de blocage, ces stathmocinèses en masse sont restées accumulées pendant 240 heures et ont pu achever leur cycle aux stades éloignés (190 à 260 heures). En général, chez l'*Axolotl*, on n'a pas observé l'aspect classique, comme chez les autres Batraciens.

Reprenant la discussion au sujet du mécanisme d'action de l'alcaloïde, en se basant sur ses expériences, DELCOURT arrive aux conclusions suivantes:

1° La colchicine n'agit pas du tout sur le chondriome des cellules au repos, mais provoque des modifications brusques de la teneur de la cellule hépatique en lipides;

2° Elle déclenche « l'évolution brusquée » des cellules en imminence caryocinétique, suivie de destruction pour une partie d'entre elles;

3° La poussée stathmocinétique est trop nettement disproportionnée avec la vague discrète de pycnoses, pour qu'elle puisse être conditionnée par celle-ci;

L'onde d'hypercinétose est d'autant plus précoce que la dose est plus élevée et que l'animal a été placé à une

température plus haute. Il semble donc se former un dérivé actif qui agit sur les cellules prêtes à entrer en division et dont la formation est favorisée par la chaleur ;

5° L'altération immédiate des cinèses est représentée par la condensation brutale de la plaque équatoriale, conséquence de l'altération du fuseau, elle-même conditionnée par la diminution de l'imbibition du cytoplasme périfusorial.

La présence de vacuoles albuminoïdes entre les fibres du fuseau, la description de figures monoastériennes avec demi-fuseau, qui a été faite par DELCOURT, sont données comme preuve de ce mécanisme ;

6° De pareilles altérations doivent aboutir soit à la dégénérescence pycnotique de la cellule, soit à la reconstitution du fuseau, suivie d'une télophase normale. Ce dernier fait peut s'observer évidemment avec des doses faibles ;

7° Les troubles de la mécanique divisionnelle peuvent avoir diverses conséquences, graduées de la manière qui suit : aberrance de chromosomes, dispersion, contraction et fusion des chromosomes, enfin, inhibition totale de la mitose ;

8° L'excrétion sphérulaire apparaît ailleurs que dans l'épithélium intestinal et les sphérules restent toujours paranucléaires. C'est donc un phénomène général causé par des doses fortes ;

9° Le mâle réagit deux fois plus vivement que la femelle ;

10° Les doses fortes sidèrent la capacité divisionnelle, au lieu de l'exagérer ;

11° Enfin, le nombre vraiment énorme des mitoses bloquées dans la rate de l'Axolotl ne serait explicable que par l'entrée simultanée de nombreuses cellules en division. L'action excito-mitotique dominerait donc, chez les Urodèles, l'action classique de la colchicine.

B) Travaux de BUREAU et VILTER

Puisque DELCOURT avait admis que les Urodèles manifestaient plus nettement les propriétés stimulatrices de l'alcaloïde sur la division, il était naturel de s'adresser à eux pour essayer de résoudre cet important problème de cytophysiologie: la colchicine agit-elle en stimulant ou en inhibant la mitose?

Par ailleurs, puisque le rapport entre les diverses phases mitotiques se trouve troublé, n'est-il pas facile, par des numérations statistiques, de savoir comment se comportent celles-ci pendant les premières heures d'action? Il est seulement nécessaire d'éviter les causes d'erreur, dues à la méthode des coupes. En exposant les conclusions de DELCOURT, nous avons été frappé par des descriptions de figures en demi-fuseau, qui pourraient à la rigueur être dues à une coupe oblique de la cellule considérée. Si l'on utilise des préparations *in toto*, on peut, au contraire, éviter cette cause d'erreur et d'ailleurs les figures vues au microscope sont ainsi beaucoup plus faciles à observer. La cornée de l'Axolotl est un matériel d'étude commode, qui permettra de préciser les problèmes soulevés par DELCOURT.

Voici quelles sont ces précisions:

1° Loin d'augmenter, le nombre total des divisions commence par diminuer, puis il augmente de nouveau, à mesure que l'accumulation de mitoses bloquées se fait de plus en plus sentir;

2° Le nombre des prophases diminue légèrement, mais il ne disparaît pas avec des doses moyennes, sans quoi l'accumulation de métaphases ne pourrait se faire;

3° Celle-ci suit une courbe ascendante, due à ce que chaque heure qui passe apporte au toxique de nouvelles divisions qui ne peuvent dépasser la métaphase.

4° Les figures décrites par DUSTIN et par LITS, sous le nom de stathnocinèses, sont en réalité des phases tardives de l'action colchicinique, qui peuvent être considérées déjà comme dégénératives. Quelle est l'image précoce caractéristique?

5° Si l'on classe à part les différents aspects des cellules en division, on s'aperçoit que le stade de spirème fragmenté, qui précède immédiatement la plaque équatoriale, est le premier à augmenter de nombre, la figure colchicinique typique étant représentée par des chromosomes, disposés de façon désordonnée au centre de la cellule, sans qu'ils s'étalent à l'équateur et sans qu'apparaisse aucune image de fuseau. Le nombre de ces phases augmente régulièrement jusqu'à ce que certaines d'entre elles dégénèrent pour aboutir à l'image classique de DUSTIN. Souvent, ces chromosomes se clivent et cet aspect de clivage anormal est le véritable type de mitoses bloquée;

6° Enfin, les ana et les télophases diminuent pour disparaître totalement, quand toutes les cellules qui l'avaient déjà commencée ont terminé leur division.

Voilà les renseignements précis et solidement basés sur une étude statistique, qui apportent au problème sa solution.

Même chez les Urodèles et malgré les apparences, la colchicine arrête la division, en prolongeant le stade particulier de la prémétaphase, ce qui oblige les chromosomes à dégénérer le plus souvent.

**8° Autres travaux sur l'animal in vivo
confirmant les conclusions de Bureau et Vilter**

A ces constatations, d'autres allaient s'ajouter pour renforcer encore une opinion largement corroborée, nous l'avons vu, par l'étude des Végétaux :

BUREAU et VILTER ont observé à nouveau chez la Souris les mêmes résultats donnés par la méthode statistique, malgré la petitesse des cellules et la difficulté de diagnostic des phases mitotiques. Chez cet animal, ils ont reconnu l'effet excessivement rapide des injections intra-veineuses, en relation avec la plus grande rapidité de la mitose chez les Mammifères.

Des expériences ultérieures sur les cultures de tissus montreront que les auteurs ne s'étaient pas trompés.

L'analyse faite par BRUES de l'effet de la colchicine sur le foie en régénération, après hépatectomie partielle chez le Rat, est une démonstration élégante des travaux de BUREAU et VILTER. Une formule empirique permet de calculer à chaque moment le nombre des cellules en division de régénération. Si toute croissance cellulaire est due à des mitoses et si la colchicine les arrête sans les accélérer, ni les retarder, le nombre donné par cette formule empirique pourrait égaler les proportions de cellules en mitose arrêtées à chaque moment.

Or, le pourcentage de cellules bloquées, avec les doses de 0,1 ou 0,2 mmgr. par 10 grammes de poids corporel,

avoisine la courbe théorique donnée par la formule. Il n'y a donc pas de stimulation et l'image d'accumulation que l'on observe parfois après la colchicine ne peut être due qu'à une action retardatrice sur la durée de la division.

Seul, C.-M. LAUR a cru pouvoir observer une évolution accélérée de l'œuf de *Rana* sous l'influence de la colchicine. Mais aucune de ses observations n'ayant contredit directement les faits ci-dessus, on ne peut logiquement les considérer comme définitives.

9° Action de la colchicine sur les cultures des tissus

Il restait encore une question, que les recherches citées n'ont pas résolue: la colchicine agit-elle par un mécanisme direct ou indirect? L'emploi des cultures de tissus allait permettre d'y répondre.

1° LUDFORD (1936) a inauguré cette sorte de travaux; cet auteur s'est servi soit de cultures de carcinomes, soit de cultures de tissu rénal embryonnaire de Souris; il constata, comme sur l'organisme en entier, l'arrêt des divisions à un stade voisin de la métaphase et retrouva un fait intéressant: la plus grande activité du poison sur les cultures de carcinome à développement rapide, que sur ceux à développement lent. Cette déduction expérimentale n'a rien qui nous étonne. L'efficacité est nettement plus grande sur les tissus embryonnaires que sur les tissus adultes.

2° GAVRILOV et VON BISTRAM (1939) ont utilisé des cultures de fibroblastes de cœur d'embryon de Poulet, au septième jour de son développement, cultivé sur plasma de Poule, avec ou sans héparine et additionnées de jus

d'embryon de même espèce. Tantôt la colchicine a été mélangée à celui-ci, en variant le degré de solution, tantôt les cultures entières, préparées sur lamelles de mica, ont été placées pendant une heure dans des bains de colchicine de diverses concentrations, puis retirées, mouillées de jus d'embryon et remises à l'étude.

A) *Doses faibles*. — Le résultat a été net après quatre heures. D'une part, le nombre des mitoses observées est nettement plus élevé que dans les cultures témoins. A la sixième heure, on observe quelques prophases (de 10 à 3 %), mais pas d'ana-; ni de télophases et quelques anomalies nucléaires. A la 24^e heure, toutes les cultures placées dans un bain de colchicine sont mortes, sauf une, qui ne vaut guère mieux.

Ce qui est plus particulier à ce travail, c'est l'importance que l'auteur attache à la présence de « monocytoïdes », cellules rondes, peut-être dérivées des fibroblastes, qui offrent un noyau contracté et fortement coloré par l'hématoxyline. L'élévation progressive du nombre des cellules, parallèlement à celui des mitoses observées dans les cultures colchinisées, leur absence dans les mitoses témoins, leurs caractères cytologiques et l'aspect clair de leur protoplasme, font penser qu'il s'agit peut-être de cellules préalablement atteintes, arrêtées à la métaphase, continuant cependant à vivre quelque temps et susceptibles même de se régénérer. Enfin, les auteurs rapportent des modifications cytologiques du protoplasme (vacuolisation, granulations fortement teintées par l'hématoxyline), qui s'expliquent peut-être par une action du toxique sur la viscosité de ce dernier et qu'on découvre après action prolongée (4 à 5 jours) de solutions très faibles. Leurs expé-

riences montrent nettement des irrégularités d'action et des aberrances inexplicables.

B) *Doses fortes*. — Elles donnent approximativement les mêmes effets, mais la croissance, qui était à peu près normale avec des doses faibles au début, devient ici très irrégulière et souvent ralentie.

3° Les travaux de J. VERNE et V. VILTER, appliquant à ce matériel la méthode statistique, comme précédemment à l'étude de l'*Axolotl*, montrent encore une fois l'intérêt de recherches systématiques, basées sur des notions irréfutables.

a) Après adjonction de plasma frais de colchicine à 1/12.000.000^e (dose faible) on observe, dans une première phase, la raréfaction notable du nombre total de mitoses avec peu de prophases et peu d'anaphases. Dans une deuxième période, il y a une légère accumulation de figures prémétaphasiques avec un nombre de prophases toujours réduit. Enfin, dans un troisième temps, le nombre des prophases redevient normal et l'accumulation de mitoses colchiniques est énorme.

Il y a donc une relation directe entre l'accumulation de mitoses bloquées à la métaphase et l'existence de prophases en nombre normal ou subnormal. Comment prouver plus clairement que les images d'accumulation sont dues à un ralentissement de la mitose? La discrétion apparente de l'action toxique au début trouve son explication dans le fait que les tréphones du milieu n'ont pas eu le temps d'atteindre les cellules, de sorte que l'accroissement n'a pas encore commencé et que les mitoses sont peu nombreuses.

b) Avec une concentration de $1/4.000.000^e$, une légère accumulation de figures prémétaphisiques non intoxiquées s'observe, alors que le nombre des prophases reste identique; mais ce nombre diminue ensuite jusqu'à disparaître, de sorte que l'accumulation n'apparaît pas, puisque le nombre des cellules susceptibles d'arriver jusqu'à la métaphase est fortement réduit.

De cet ensemble de travaux, qui montrent bien quels enseignements de première valeur les cultures de tissus peuvent apporter à l'étude de la pharmacodynamie cellulaire, il faut tirer les conclusions qui s'imposent:

1° La colchicine agit directement sur les cellules et non en déclenchant un mécanisme organique compliqué;

2° Quel que soit l'aspect que prend son activité, elle peut agir de deux façons différentes: soit en accumulant des métaphases par inhibition du mécanisme fusorial, quand les prophases restent en nombre normal, soit en inhibant toutes les phases de la division, quand la dose a été assez forte pour dépasser l'effet habituel. Rappelons que cet effet paradoxal des doses fortes avait été déjà signalé, mais non expliqué, par LITS, puis par DELCOURT;

3° Aucune des constatations faites par les auteurs ne peut permettre d'envisager l'idée d'effet excitomito-tique;

4° L'action est d'autant plus énergique qu'il y a plus de mitoses, d'où la plus grande efficacité de la colchicine sur les tissus embryonnaires et sur les tissus à développement *rapide*.

CHAPITRE III

LES AUTRES TOXIQUES DE LA DIVISION CELLULAIRE

Leurs caractères et leur classification

La colchicine a été le plus connu et le mieux étudié de ce que DUSTIN appelle les poisons caryoclasiques. Au cours des chapitres précédents, nous avons vu qu'il n'était pas le seul. Mais de tous les corps rencontrés chemin faisant, aucun ne paraît avoir la même action sur les différentes zones germinatives, de sorte que nous avons été amené à nous poser la question des sensibilités différentielles, en nous demandant ce que ce terme signifie. On connaît encore trop mal les nombreux toxiques étudiés, pour décider en dernier ressort de ce problème délicat. Par contre, la précision relative de nos connaissances sur l'alcaloïde du Colchique et son application systématique à un matériel biologique varié en font pour le moment le poison caryoclasique majeur ; c'est pourquoi les application de la découverte de Dus-

TIN continuent à s'étendre chaque jour. L'étude comparative que nous allons ébaucher restera forcément fragmentaire et provisoire, car ce chapitre de l'histoire scientifique ne sera peut-être jamais terminé. En attendant, nous allons essayer de classer momentanément et de façon utilitaire les substances que nous avons appelées les toxiques de la cellule en division.

Mais comme leur action n'est jamais parfaitement identique, ni également aussi forte sur les divers stades de la mitose et sur les divers tissus, il nous faut un critère général, qui permette d'accepter ou de rejeter chacun d'eux, suivant son effet sur la cellule. Quel pourrait être ce critère?

La définition donnée par DUSTIN nous paraît actuellement trop étendue: « Est caryoclasique, d'après cet auteur, tout corps qui déclenchera *rapidement* de *grosses* lésions nucléaires, superposables à celles obtenues par les rayons X, et cela particulièrement dans le cortex thymique, les centres germinatifs lymphoïdes et parfois les cellules en cinèse de l'intestin grêle ». On pourrait objecter que le thymus et les organes lymphoïdes, étant normalement le siège des destructions et de restaurations tissulaires importantes, réagissent à des agents vraiment trop divers. Par ailleurs, classer, comme le fait LITS, les protéines ou les peptones à côté de la colchicine, c'est, à notre avis, mettre sur le même pied des choses très différentes. Si cette dernière mérite une place prééminente, c'est justement parce que son action, partout la même, est indépendante de l'organe considéré et nous verrons que la notion de sensibilité différentielle à son sujet est souvent basée sur des observations pas assez critiquées. A côté d'elle, beaucoup de

substances agissent de façon plus limitée, peut-être parce que leur toxicité est trop forte, ou parce qu'on n'a pas employé de doses assez variées. Il est même difficile, dans l'état actuel de nos connaissances, de décider, pour une substance donnée, si son activité sur la caryocinèse est due à une action immédiate et *directe*, ou à une réaction de l'organisme, dont l'intervention est difficile à déceler. En principe, nous devrions rejeter de ce chapitre tout poison chimique ou toute substance biologique, dont l'effet se borne à provoquer dans le thymus une onde plus ou moins massive de pyénoses. Il n'est pas prouvé qu'il soit spécifique pour cela, ni qu'il agisse nettement sur la division cellulaire. Force nous est bien pourtant d'en conserver provisoirement un certain nombre, ne serait-ce que pour nous en tenir à l'usage.

Nous indiquerons cependant, à propos de chacun, ce que nous pensons de l'étude qui en a été faite. Ceux qui sont susceptibles d'empêcher, retarder, ou déformer le mécanisme de la caryocinèse, tout en respectant généralement le noyau quiescent, ont souvent été trop succinctement étudiés pour que nous donnions à leur égard une opinion définitive sur leur mode d'action. Tout ceci nous fera conclure simplement qu'il y a là une moisson considérable, pour les travailleurs qui voudront à l'avenir approfondir ce sujet.

I. — GROUPE DES COLORANTS

1° Colorants d'acridine

A) Trypaflavine

(DUSTIN, MAYER et VAN HEERSWYNGHELs)

Chlorure de 3,6, diamino-10 Méthyl acridinium

Nous ne reviendrons pas sur les travaux anciens de G. HERTWIG et de DALCQ, ni sur la découverte par DUSTIN de l'action de ce colorant, ni sur l'étude de l'excrétion sphérulaire, commencée à propos de lui. Nous rappellerons seulement l'analogie très nette qui rapproche son action de celle des rayons X, analogie maintes fois soulignée par les auteurs.

Comment la trypaflavine intervient-elle dans la division?

Lorsque MAYER et VAN HEERSWYNGHELs ont, après DUSTIN, considéré ce problème, une première constatation les a frappés: la diminution progressive du nombre de cinèses, jusqu'à la 7^e ou la 9^e heure. Ce fait, qui paraît dû à l'action directe du toxique sur la mitose, a été observé sur des animaux traités par injection d'une solution à 1 pour 1.000. Or, il est remarquable que pendant le même laps de temps, la colchicine provoque une accumulation très nette de mitoses bloquées chez des animaux de même espèce. Faut-il admettre que l'action de ces deux produits est exactement inverse?

Non, car cette différence peut être due soit à une question de dose (trop forte pour la trypaflavine), soit à une question de toxicité (qui expliquerait son effet brutal

d'inhibition mitotique absolue). Beaucoup d'auteurs admettent que si la colchicine agit par destruction de l'appareil fusorial, sans toucher directement aux chromosomes, c'est que sa toxicité est relativement faible aux doses employées. Il est certain qu'elle ne peut, comme les rayons X, arrêter complètement toute entrée en division. Mais, comme l'ont vu LITS, DELCOURT, puis VERNE et VILTER, il est non moins certain qu'une dose plus élevée de colchicine aboutit au résultat paradoxal d'une accumulation mitotique indiscutablement moindre. Peut-être en est-il de même avec les doses de tryptaflavine qui ont été utilisées, et cela expliquerait que les mêmes images d'excrétion sphérulaire apparaissent sous l'influence des deux produits. L'horaire identique des réactions histologiques vient à l'appui de cette hypothèse, car la phase de repos mitotique succédant à la première période est suivie d'une phase d'hyperactivité cinétique secondaire, qui se place pour la colchicine, comme pour la tryptaflavine, aux environs de la 100^e heure. Au reste, il ne s'agit là que d'une suggestion, que des travaux ultérieurs devront venir confirmer.

Un autre fait doit retenir notre attention: les propriétés photosensibilisatrices de ce colorant sont connues. Si on les compare à celles de l'érythrosine, dont l'action a été considérée comme caryoclasique et d'ailleurs, augmentée par la lumière, on est amené à se demander si l'effet de ces colorants ne varie pas dans des conditions différentes d'exposition à celle-ci. Une expérience de MAYER semble prouver que cet effet est le même, les animaux étant placés à l'obscurité, ou à la lumière diffuse de laboratoire. Mais cet intéressant problème demande, lui aussi, à être systématiquement vérifié.

Avant d'abandonner un corps aussi actif, signalons le travail de BUZARD, au sujet de son action sur le testicule par injection *in situ* en solution à 1/500°. Alors que l'introduction par voie veineuse ne produit aucune lésion sur des cellules germinales, l'injection à l'intérieur même du tissu provoque un arrêt brutal des mitoses, puis les spermatogonies reprennent leur activité cinétique, tandis que les mitoses spermatocytaires diminuent progressivement. Cette expérience a un double intérêt : elle semble prouver que les différences de sensibilité entre les organes sont peut-être dues à une pénétration inégale des médicaments jusqu'à eux et non pas à une mystérieuse spécificité ; elle rapproche davantage encore l'action de la trypaflavine de celle des radiations, alors que DUSTIN et MAYER s'étaient justement servis des réactions du testicule pour les distinguer. La trypaflavine est donc le poison radiomimétique par excellence. Pour cette raison, son étude mérite d'être reprise.

B) *Rivanol*

(Lactate de 2 éthoxy-6,9 diamino-acridinium)

a) *Sensibilités différentielles :*

Avec la solution employée (solution aqueuse à 1 et à 3 %), il est très actif sur le thymus et les organes lymphoïdes, il l'est beaucoup moins que la trypaflavine sur l'intestin grêle.

b) *Mode d'action sur la mitose :*

Les cinèses intestinales apparaissent généralement comme normales ; quelques-unes cependant sont atypiques et très grandes. Parfois, les noyaux sont monstrueux. Voilà donc un produit qui atteint différemment la mitose, suivant qu'on le fait agir sur le thymus ou

l'intestin. Dans les glandes de Lieberkühn, l'effet observé est voisin de celui qu'on obtient avec des doses faibles de colchicine.

C) *Moranyl*, ou 309 *Poulenc*, ou *Germanine Bayer*

Urée symétrique du méta-amino-benzoyl, métamino-para-méthyl-benzoyl-1 naphtylamine-4, 6, 8 trisulfonate de sodium.

Injecté en solution aqueuse au 1/1000^e, il provoque, lui aussi, au 4^e jour, l'apparition de caryocinèses dans les cellules hépatiques et, en plus grand nombre encore, dans les cellules de Küppfer.

2° Colorants d'aniline

A) *Bleu trypan* (DUSTIN)

Ce fut, comme on le sait, la première substance chimique dont les propriétés classiques furent découvertes par DUSTIN. Cependant, son action sur la mitose n'a guère été étudiée par la suite. Il semble que, caryoclasique en tant que provoquant des pycnoses, il agisse indirectement pour induire l'onde de mitoses qui suit toute poussée pycnotique massive.

B) *Bleu pyrrhol* (DUSTIN)

A exactement la même action que le bleu trypan.

C) *Bleu d'isamine* (BERNHARDT, ROOSEN, DUSTIN)

Exclusivement étudié dans son action sur le cancer par BERNHARDT, puis par ROOSEN, ainsi que d'autres colorants, son effet sur la mitose n'a pas été analysé en détail. Injecté lentement dans la circulation, en solution à 0,5 % dans l'eau distillée, il semble ralentir pendant

quelque temps le rythme cinétique, qui reprend ensuite son cours normal. Il provoque donc dans les premières heures la chute de l'index mitotique. D'après DUSTIN, il serait beaucoup moins actif que les rayons X ou γ , tout en manifestant des propriétés semblables. Il peut renforcer l'action des radiations sur le cancer.

D) *Bleu brillant crésyl ou auramine* (POLITZER)

Son action sur la cornée de la Salamandre par simple contact a été analysée par POLITZER. Il produit deux heures après un trouble profond du rythme mitotique, en modifiant la prophase (puisque le nombre des spirèmes diminue) et la métaphase (en augmentant le nombre des plaques équatoriales ou « mono-asters »). Quand il a agi assez longtemps, les stades où les chromosomes se dédoublent disparaissent progressivement : stade de clivage, de diaster (ou anaphase), de dispirème (ou télophase). Cet état dure 23 heures, puis les mitoses dédoublées réapparaissent dans l'ordre de leur suppression. On remarque l'aspect épaissi et ramassé des chromosomes, rassemblés au centre de la cellule. Il provoque donc une contraction générale de l'appareil mitotique.

Nous ne pouvons manquer d'être frappé de l'analogie exacte entre ces aspects, décrits par POLITZER, et les images que nous avons observées nous-même sur la cornée du Triton après injection de colchicine. Peut-être s'agit-il d'un corps dont l'action est identique à celle de l'alcaloïde.

E) *Bleu nil* (POLITZER)

Il a la même action que le précédent sur la diminution du nombre des cinèses, à partir de la 3^e heure. Mais ici apparaissent des mitoses anormales : au dédouble-

ment, les chromosomes se séparent en bloc, sans se délier les uns des autres, le clivage est troublé, d'où de pseudo-amitoses. A la 72^e heure commence l'inhibition totale des mitoses, qui recommencent à apparaître après deux jours, sans atteindre le chiffre normal.

F) *Cristal violet ou violet de méthyle* (POLITZER)

Ici, le colorant provoque, à faible concentration, la nécrose de la partie superficielle des cellules, à forte concentration, des effets semblables à ceux des radiations.

G) *Vert brillant*

Sulfate de tétraéthyl-diamino-phényl-carbinol (DUSTIN)

H) *Vert malachite*

Chlorure double de zinc et de tétraéthyl-carbinol.

(DUSTIN)

Ces deux corps agissent surtout en provoquant des ondes de pycnoses thymiques.

I) *Erythrosine* (DUSTIN, JOLLY)

Pour ce colorant, les travaux de JOLLY semblent prouver que l'exposition à la lumière favorise et fait peut-être apparaître l'action caryoclasique. Son action directe sur la mitose est mal connue.

J) *Rouge neutre* (POLITZER)

Ce colorant vital provoque des anomalies de la division nucléaire, ce qui donne naissance à de faux aspects d'amitose.

II. — GROUPE DES ARSENICAUX (Dustin, Piton et Rocmans)

Nous avons suffisamment insisté sur ces corps dont l'étude a été poussée par DUSTIN, PITON et ROCMANS, pour ne donner maintenant qu'une nomenclature de leurs effets.

Tous sont considérés par l'Ecole de Bruxelles comme excitants de la division cellulaire, mais à des degrés différents.

A) *L'anhydride arsénieux* (As_2O_3)

A une action rapide et intense sur l'apparition de nombreuses mitoses, qui évoluent vers la dégénérescence. C'est donc un agent dont l'action biologique ressemble à celle de la colchicine, si l'on néglige les sensibilités différentielles.

B) *Le cacodylate de soude* (di méthylarsinate de soude)

Son action, beaucoup plus énergique que celle de l'acide arsénieux, l'est dix fois moins que celle de la colchicine. Les mitoses cacodyliques ont le même type que les mitoses colchiciniques. Il reproduit même les deux types de métaphase bloquée (type à chromosomes disséminés et type à chromosomes agglutinés), suivant qu'on l'utilise à doses faibles ou à doses fortes.

C) *L'arrhéнал* (monophénylarsinate de soude)

Alors que le cacodylate provoque, d'après PITON, une « poussée mitotique intense », en faisant avorter un grand nombre de divisions, l'arrhéнал, au contraire, fait apparaître peu de mitoses et les laisse évoluer normalement.

Cette différence d'action n'est pas due à la teneur plus ou moins grande de ces corps en arsenic. Il semble que le radical organique joue un rôle aussi important que ce dernier.

D) *Atoxyl* (aminophényl-arsinate de soude)

Rappelons que ce dernier corps agit comme la trypaflavine sur le thymus et pas du tout sur la cellule intestinale.

L'analyse de ces quatre dérivés arsenicaux nous paraît laisser en suspens des problèmes nombreux :

a) Comment ces corps agissent-ils sur les diverses phases de la mitose ?

b) Quel est le résultat obtenu par une application plus ménagée et au début de l'action toxique ?

c) Leur action est-elle particulière aux Mammifères, ou générale, comme celle de la colchicine ?

Un travail de GRÉGOIRE et LISON donne à cette dernière question un début de réponse. L'injection à un Crustacé (*Astacus fluviatilis*) de 30 milligrammes de cacodylate, en solution aqueuse à 2,5 % ou 5 %, donne dans la glande lymphatique une réaction analogue à celle qu'a observée PITON chez les Mammifères : accroissement du nombre de mitoses, la plupart étant à la métaphase avec chromosomes bien individualisés, clivés longitudinalement et souvent dispersés irrégulièrement dans toute l'aire protoplasmique. Il n'y a ni fuseau, ni centre cellulaire. Enfin, le nombre de prophases diminue progressivement du 4^e au 10^e jour. Plus tard, les métaphases montrent des chromosomes tendant à s'agglutiner et les dégénérescences de mitoses augmentent de nombre. Cette expérience rappelle étrangement les

différences qui existent entre la mitose colchicinique chez les Mammifères, et, d'autre part, chez les animaux inférieurs et les Végétaux. La mitose cacodylique chez l'*Astacus* ressemble également à ce qu'on voit chez la Souris, quand on lui injecte du cacodylate à haute dose, qui bloque et rend pycnotiques les chromosomes isolés.

ICKOWICZ a essayé de substituer l'électrolyse ou ionophorèse à la voie parentérale, pour la pénétration des dérivés arsenicaux. Il a pu en conclure que le cacodylate et l'anhydride arsénieux étaient inactifs par ce procédé, alors que l'arséniate de soude est très actif (par double décomposition au pôle + et au pôle —). Cela prouve :

a) Que l'action des dérivés étudiés n'est pas due à la libération de l'arsenic;

b) Que la pénétration par ce procédé physique est parfaitement efficace.

Enfin, GAVAUDAN, chez les Végétaux, a obtenu, par immersion, dans des solutions de cacodylate à 1 pour 100.000, des tuméfactions radiculaires et des anomalies analogues à celles dues à la colchicine.

L'ensemble de ces recherches suggère que les arsenicaux possèdent une toxicité variable et représentent toute une gamme d'actions, suivant la dose, le dérivé utilisé et le matériel biologique.

III. — GROUPE DES CORPS GRAS

Leur étude est partie d'une observation de LECLoux qui avait constaté, chez la Souris, que ces corps retardent l'apparition de papillomes cutanés provoqués par le goudron, et de cancers ou de précancers apparus spontanément.

FIRKET et LINHOFF se sont demandé s'ils avaient par conséquent une action régulatrice sur la croissance cellulaire.

A) PARAFFINE LIQUIDE ET SUSPENSION D'OLÉATE FERREUX
DANS LA PARAFFINE

L'injection intra-péritonéale de ces substance à des Souris donne:

a) Une exsudation péritonéale précoce, allant en augmentant jusqu'à la 15^e heure, d'abord riche en polynucléaires, puis en cellules mononucléées (lymphoïdes ou endothéliales);

b) Une hyperplasie du tissu conjonctif;

c) Dans le thymus, des courbes alternantes de pycnoses et de mitoses, correspondant à celles décrites par DUSTIN.

Peut-être, se demandent les auteurs, l'exsudation péritonéale exerce-t-elle un appel de substances nutritives vers les tissus capables d'en fournir (par exemple thymus)? S'il en est ainsi, ces corps gras agissent très indirectement sur la mitose, car la réaction exsudative est immédiate, tandis que l'absorption de paraffine est tardive. Les auteurs éliminent l'action indirecte du pH, car, si elle intervenait, il y aurait plus de mitoses dans les cellules conjonctives du mésentère. Or, il n'en est rien. On ne peut donc classer ces substances parmi les poisons de la mitose.

B) SAPONINE (CHODKOWSKI)

De nombreux auteurs ont étudié la saponine, son action sur le sang et les organes hématopoïétiques, particulièrement l'apparition de mégacaryocytes dans la

rate, le foie, les ganglions et même d'autres organes. Dans tous elle agit en provoquant l'augmentation du nombre des pycnoses et une diminution régulière du nombre des mitoses, qui se relève ensuite progressivement. Au stade tardif, vers la 72^e heure après l'injection, on observe dans le foie de nombreux mégacaryocytes, dont quelques-uns sont en division. Cette constatation rappelle l'observation de LITS sur l'action de la colchicine à un stade également tardif, et l'interprétation qu'il en a donnée : caryocinèses sans cytodiérèses des cellules réticulo-endothéliales. Il y a aussi une métaplasie myéloïde dans le foie et une poussée d'hypercinétose tardive (réactionnelle?), assez remarquable, parce que rare dans les circonstances normales. Dans le pancréas, il n'est pas d'usage de rencontrer de cinèses précoces, sauf après la colchicine. La saponine en fait apparaître cependant dès la 2^e heure, dans les îlots de Langerhans; après une phase de repos divisionnel (48^e à 96^e heure), la phase mitotique tardive y est particulièrement intense. Il en est de même pour le rein, où cette phase de repos n'existe pas.

CHODKOWSKI considère par conséquent la saponine comme capable d'exciter les cellules à se diviser dans certains parenchymes, tout en freinant la mitose dans le thymus et le système lymphoïde. Les divisions tardives seraient, d'après DUSTIN, la conséquence des pycnoses thymiques, la résorption de substances phagocytées provoquant l'entrée en division. La saponine agit très peu sur l'intestin, où n'apparaissent pas de sphérules nucléoïdes, pas du tout sur les ovaires et le testicule.

C) ACTION DES SUBSTANCES HUILEUSES SUR LES VÉGÉTAUX
(GARRIGUES)

Récemment, GARRIGUES vient d'étudier chez les Végétaux supérieurs l'action de deux substances huileuses, utilisées par ailleurs comme solvants pour divers carbures mito-inhibiteurs.

Voici les modifications cytologiques qu'il obtient dans des racines du *Pisum sativum*:

a) Avec l'huile de ricin, l'onde de mitoses diminue graduellement sans autres anomalies;

b) Avec la trioléine et l'huile de vaseline, les noyaux quiescents deviennent bientôt déchromatinisés et ceux de l'apex radiculaire, pycnotiques. La prophase est normale. A la métaphase les chromosomes épaissis et racourcis, plus ou moins dispersés sur le tonnelet fusorial ou en dehors de lui, rarement disposés en plaque équatoriale régulière, n'ont pas tendance à émigrer vers les pôles, d'où une alvéolisation sur place (vraie stathmo-télophase), ce qui aboutit à des noyaux tétraploïdes. Nous rapprocherons ces altérations de celles que donne le paradichlorobenzène. Il semble que les substances huileuses chez les Végétaux agissent en diminuant l'apport d'eau et par conséquent en augmentant la viscosité. Nous retrouvons donc ici l'influence de ces phénomènes d'imbibition aqueuse dans l'altération du mécanisme divisionnel.

IV. — GROUPE DES ALCOOLS (Jolly, Politzer)

A) ALCOOL ÉTHYLIQUE

Rappelons les expériences de JOLLY, sur l'injection intra-péritonéale de quelques gouttes d'alcool éthylique à 60° ou 80°, qui provoque dans le thymus du Rat une onde de pycnoses assez intense, ayant son maximum à la 15^e et 18^e heure. Une étude plus intéressante pour nous a été faite par POLITZER, qui a repris les travaux antérieurs de POLOWZOW et GURWITCH, de MOINE et KORFELD. En soumettant des larves de Salamandre à l'alcool éthylique, il obtient une chute brusque de l'index mitotique et la cellule ne peut arriver au stade du spirème. Chose intéressante à noter, l'alcool à 5 % provoque en même temps la narcose. C'est la première fois que nous rencontrons cette association de propriétés mito-inhibitrices et narcotiques, que nous retrouverons bientôt.

B) ALCOOL MÉTHYLIQUE

Etudié par MOINE et KORFELD, il a une action analogue.

V. — GROUPE DES NARCOTIQUES

A) L'ÉTHÉR. — Etudié par NATHANSON (1900), WILSON (1901), MOINE et KORFELD (1925), enfin POLITZER, il fait baisser l'index mitotique, avec minimum à la 7^e heure, et provoque chez *Spirogyra* des irrégularités de division, qui furent interprétées au début comme des amitoses.

B) LE CHLOROFORME (WILSON). — A une action analogue.

C) LA CHLORÉTHONE (MOINE et KORFELD, POLITZER), trichlorbutylalcool. A la dilution de $1/25^e$ et $1/50^e$, il provoque d'abord la narcose, puis des troubles nucléaires des cellules au repos (cellules nécrosées, tuméfiées, arrondies) et des pseudo-amitoses, comme après action des rayons X ou du rouge neutre. Les caryocinèses ont des chromosomes allongés et répartis dans tout le cytoplasme.

POLITZER considère qu'à l'inverse de l'auramine, ce corps provoque une dispersion de l'appareil mitotique.

D) L'HYDRATE DE CHLORAL (NEMEC, SAKAMURA, VAN REGEMORTER, GAVAUDAN, GARRIGUES). — Le plus important de tous ces narcotiques, dont la cytotoxicologie est connue, est, sans contredit, le chloral. WASILIESKI avait observé son action sur les racines de *Vicia Faba* et, cette fois encore, les images observées avaient été prises pour des divisions directes. NEMEC (1904) avait bien vu des cellules devenues tétraploïdes par défaut de cloisonnement et des irrégularités caryocinétiques. Mais STRASSBURGER et KEMP avaient rejeté cette manière de voir. Reprise par SAKAMURA, puis par VAN REGEMORTER, elle s'impose avec les recherches ultérieures de GARRIGUES, GAVAUDAN, LEFÈVRE. Ces derniers ont établi les lois générales de l'action du chloral chez les Végétaux, mais, à notre connaissance, son effet sur les animaux n'a pas encore été étudié. Voici les caractères généraux de cette action pour des concentrations de 0,5 % ou 1 % :

a) *Macroscopiquement,*

on observe chez les Végétaux une réduction simple de la croissance, sans aucun de ces signes observés avec la colchicine (renflement subterminal et ébauches radicellaires). L'allongement des racines est inhibé par le

chloral plus que par la colchicine, et leur teinte devient grisâtre, après action du premier.

b) *Cytologiquement*,

— les noyaux au repos sont souvent altérés, irrégulièrement plurilobés et parfois pycnotiques; leur taille est généralement diminuée et leur réseau chromatique contracté;

— les prophases sont augmentées en nombre et paraissent ralenties, le noyau est à ce moment agrandi et arrondi; les anses chromatiques, plus épaisses que normalement, sont parfois altérées, elles tendent à se grouper au centre du noyau, le clivage peut se faire;

— la métaphase (pseudo ou stathmo-métaphase) est caractérisée par l'inhibition du fuseau; les chromosomes déjà clivés peuvent être en nombre double, toujours disposés sans ordre régulier; ils sont parfois entourés d'une zone de protoplasme hyalin, rarement ils sont en croix ou en X. Au début de l'action, ils représentent « une plaque équatoriale terminée allant commencer l'anaphase, mais arrêtée et modifiée par l'action du chloral ». Et, dit GAVAUDAN, « on a l'impression qu'avec le chloral les mitoses sont restées fixées au stade où les a laissées l'action de la drogue »;

— l'anaphase est généralement inhibée. On peut cependant observer un déplacement des chromosomes, qui se passe toujours dans la zone hyaline, mais se fait sans la présence du fuseau;

— la pseudo-télophase ou stathmotélophase est rare, si on laisse le matériel sous l'influence du toxique; elle reparaît, si on la replace en milieu normal (liquide de Knop);

— le cytoplasme, enfin, n'est pas égargné: le chondriome et les leucites de la cellule végétale sont progressivement détruits.

VAN REGEMORTER a observé des modifications dans la polarisation de la division, la plaque équatoriale étant perpendiculaire à ce qu'elle était normalement, ce qui aboutit à des cloisonnements anormaux ou obliques: il conclut que ce poison, agissant sur la polarisation de la prophase (d'où l'aspect sphérique de celle-ci), il en résulte une halte à la métaphase et la substance fusoriale, quand elle n'a pas été dissoute, persiste autour des chromosomes pour constituer une zone hyaline, ce qui n'empêche pas l'achèvement du clivage sans fuseau. Il arrive qu'on observe plusieurs centrosomes à la fois, qui peuvent aboutir à des mitoses multipolaires: ce serait un indice d'un retour à la division normale.

SAKAMURA ajoute des notions du plus haut intérêt:

- quand l'agent toxique agit fortement, les chromosomes forment un amas serré;
- quand il cesse d'agir, ceux-ci se délient;
- quand il agit faiblement, il n'y a pas de zone hyaline.

Ces effets sont beaucoup moins évidents que ceux de la colchicine. S'ensuit-il que le chloral soit moins toxique? Pas du tout. GARRIGUES remarque que la première a des effets itératifs, c'est-à-dire se reproduisant au même moment de la division, mais sans empêcher l'entrée en prophase et le renouvellement de la mitose; le second, au contraire, est beaucoup trop toxique, ses seuils d'action et de toxicité sont trop voisins, il inhibe trop brutalement le mécanisme de la division pour que son effet soit itératif. Cette opinion est confirmée par son action sur le chondriome, que ne possède pas la col-

chicine. C'est un « poison de la structure », tandis que la colchicine est un « poison du fonctionnement »; le premier aboutit tout au plus à la tétraploïdie, et encore rarement; la seconde peut obtenir des polyploïdies à chiffre plus élevé et des noyaux géants. Par contre, la colchicine accélère la différenciation cellulaire, tandis que le chloral altère la cellule, sans la pousser à se différencier.

Nous connaissons chez les animaux un travail de WILSON, qui a obtenu chez les Eponges (*Microciona*) la fragmentation du syncytium épidermique en zones ayant un faux aspect de cellules, et cela par dégénérescence vasculaire du protoplasma entre les noyaux, qui peuvent d'ailleurs dégénérer à leur tour. La chlorethone a un effet semblable, preuve supplémentaire de l'action de ces deux corps sur le cytoplasme, qui est due vraisemblablement à un phénomène de surface.

Avant de quitter ce groupe de substances narcotiques, dont certaines (vératrine, nicotine, morphine) sont encore en cours d'étude, il faut signaler d'intéressantes analogies :

a) Comme pour les huiles et les corps gras, on a pu attribuer leur action à une « déshydratation du *kino-plasme* » (SHIGENAGA), à une influence sur l'activité de certaines déshydrogénases (LEFÈVRE), à un abaissement de la viscosité protoplasmique, empêchant les variations cycliques de cette dernière, au cours des différentes phases de la mitose. BEAMS et KING ont montré pour la colchicine que la centrifugation déplaçait davantage les chromosomes des cellules lésées, que ceux des cellules normales.

Nous retrouverons des analogies parallèles, en étudiant les carbures mito-inhibiteurs;

b) Il faut rapprocher de cette propriété du chloral son effet narcotique, qui est certainement en rapport avec une action sur les cellules nerveuses, par inhibition de l'influx nerveux. Cette action est peut-être d'ordre physique. Notons, dès maintenant, la répétition de ce fait, que nous retrouverons encore à propos des carbures mito-inhibiteurs.

VI. — GROUPE DES AUTRES DERIVES METALLOIDIQUES

IODURE DE POTASSIUM

La connaissance des propriétés des arsenicaux, utilisés dans la thérapeutique de la syphilis, a amené à étudier aussi les iodures. Un travail déjà ancien de ZYLBERSZAC nous permet de conclure que l'iodure de potassium crée des pycnoses thymiques, effet si facile à obtenir qu'on ne peut en tirer aucune conclusion concernant leur action sur la mitose.

VII. — GROUPE DES DERIVES METALLIQUES

A) MERCURE

On peut appliquer au mercure les mêmes conclusions. Des frictions mercurielles sur des Souris épilees provoquent des pycnoses intenses à la 24^e heure et une inversion thymique après deux jours, tout en respectant l'intestin grêle. Si l'on fait deux frictions à 24 heures d'intervalle, on arrête toutes les mitoses dans le thymus; qu'il soit utilisé sous forme de calomel ou de sublimé, le mercure agit de la même façon.

B) ZINC

SCHOTTLANDER avait obtenu des mitoses pluripolaires par action du chlorure de zinc sur la cornée de la Grenouille. ZYLBERSZAC a retrouvé l'action sur le thymus des sels de zinc, sans analyser de façon détaillée leur effet mitotique.

C) OR

Il en est de même de l'or (*Solganal*), qui mériterait une nouvelle étude.

D) BISMUTH

Il a la même action énergique sur le thymus et les organes hématopoïétiques.

E) NICKEL et COBALT

Ces corps, étudiés par ICKOWICZ, qui a utilisé comme mode de pénétration l'électrolyse ou ionophorèse, se montrent nettement caryoclasiques et agissent par ionisation au pôle positif, mais seulement à des doses élevées, voisines de la dose mortelle. Ils provoquent alors des pynoses. A doses faibles, ils semblent avoir un effet différent :

- le cobalt paraît favoriser les mitoses qui augmentent à la 24^e heure dans le thymus ;
- le nickel paraît, au contraire, les inhiber.

F) THALLIUM

Etudié par BAUMANN.

VIII. — GROUPE DES SUBSTANCES BIOLOGIQUES*A) VENIN D'ABEILLE (CORNIL et POURSIKES)*

Le venin d'Abeille, utilisé en thérapeutique humaine, a été étudié par CORNIL et POURSIKES : il provoque, à doses fortes, dans le parenchyme hépatique du Rat,

l'apparition de noyaux irréguliers, avec chromatine anormale et cellules multinucléées à trois ou quatre noyaux hypertrophiques et hyperchromatiques, disposés bout à bout. On n'observe pas de stade caractéristique d'une cinèse en évolution. Des phénomènes dégénératifs associés dans le noyau (pynoses, masses moru-lées) et dans le cytoplasme (fragmentation granuleuse) apparaissent aussi. L'injection de doses mortelles provoque surtout des lésions nucléaires et l'injection de doses minimales, les lésions destructives plus homogènes, à la fois nucléaires et cytoplasmiques.

B) TOXINE DIPHTHÉRIQUE (DUSTIN et LEROY)

De même que le bacille d'Eberth provoque des lésions pynotiques des plaques de Peyer, la toxine diphtérique en fait apparaître dans le thymus, les organes lymphoïdes, les culs-de-sacs de Lieberkühn, mais pas dans le testicule. Cet effet, est neutralisé par l'antitoxine. L'anatoxine est inactive, ce qui prouve que la destruction des noyaux ne stimule pas la production des anticorps.

C) TOXINE STAPHYLOCCOCIQUE (DE WALSCHÉ)

Son intérêt réside surtout dans la constatation de mitoses tardives, apparues dans les cellules de Küppfer et dans les cellules hépatiques, mitoses dont la signification paraît due à une régénération, puisqu'on l'observe après les lésions hépatiques brutales (hépa-tectomie partielle, intoxication phosphorée, action de la tryptaflavine) ou après injection d'extrait hépatique. Ces mitoses, qui apparaissent de la 90^e à la 110^e heure, ne sont donc pas dues à une action directe du poison.

IX. — GROUPE DES CARBURES

MITO-INHIBITEURS

Nous ne tenons pas à entrer dans des détails de technique au sujet de ce groupe de corps, dont l'action, étudiée généralement chez les Végétaux, n'a encore fait l'objet que d'applications très peu importantes au règne animal. Il nous semble cependant indispensable d'en connaître le mode d'action, d'abord en vue de recherches ultérieures, ensuite en raison des clartés qu'ils apportent sur le mécanisme des troubles obtenus. De l'étude faite par DUSTIN de corps cycliques, tels que le benzol, on est arrivé à une longue liste de substances, extraites ou synthétiques, dont le mode d'action a été analysé en se basant sur des analogies de formule chimique. Leur gamme est très variée et leur nombre s'accroît chaque jour.

A) BENZOL (DUSTIN)

C'est une notion déjà ancienne que l'action énergique du benzol sur les organes hématopoïétiques; son utilisation dans certaines maladies du sang (leucémie) est bien connue; il provoque, comme d'ailleurs la colchicine, une leucopénie suivie de leucocytose. Son action, considérée comme différente à doses faibles et à doses fortes, demanderait à être précisée. Déjà, SELLING, outre la leucopénie, l'atrophie de la moelle osseuse et l'action élective sur les cellules de la lignée myéloïde, notait la présence de quelques noyaux en caryorrhesis dans les organes lymphoïdes. DUSTIN, tout en poursuivant son étude des effets toxiques sur les organes hématopoïétiques, avait constaté que le benzol se comporte comme

un caryoclasique énergétique, avec prédominance d'action sur la moelle osseuse, mais efficace aussi sur les centres germinatifs lymphoïdes, la pulpe blanche de la rate, les plaques de Peyer, le cortex thymique. Son action sur la mitose reste un peu vague. L'auteur remarque en passant qu'il est moins actif à l'état pur qu'en solution huileuse (l'huile ralentit son élimination); il souligne le caractère différenciel de la sensibilité des éléments blancs (la leucopénie porte surtout sur les polynucléaires) et fait observer que l'arsénobenzol, au double titre d'arsenical et de benzol, doit être un agent caryoclasique et agit peut-être en thérapeutique par mise en liberté de radicaux benzoliques (hypothèse de FAILEY) ou d'arsenic (VÆTLIN).

DE LAET a fait les mêmes observations que DUSTIN.

Mais, dans tous ces travaux, il est question surtout de son effet sur les pynoses, très peu des troubles de la mitose. On ne peut donc se prononcer d'une façon définitive sur l'intérêt qui s'y attache. Il n'en est pas de même des corps suivants.

B) ACÉNAPHTÈNE

Déjà, en 1936, LUDFORD avait émis l'hypothèse que la grande activité de la colchicine était due à ce qu'elle possédait un noyau phénantrène, qui lui est commun par ailleurs avec les substances œstrogènes et carcinogènes. En 1938, SCHMUCK, partant de cette similitude de structure, s'est demandé si d'autres composés, possédant le même noyau, n'auraient pas une action analogue; il considérait que l'action des carcinogènes et de la colchicine était plus ou moins comparable, ce qui est encore incomplètement prouvé aujourd'hui. Il a étudié depuis divers dérivés du naphthalène, et particulièrement l'acé-

naphtène, dont l'effet macroscopique sur la germination est analogue à celui de la colehicine. Son activité serait due, d'après l'auteur russe, à l'adjonction d'un cycle 5 à deux cycles 6. NAVASCHIN a décrit la formation de cloisonnements cellulaires aberrants et de divisions anormales sans fuseau; KOSTOFF, l'inhibition du fuseau, qui entraîne la formation de noyaux monstrueux et polyploïdes, mais ne gêne pas le clivage des chromosomes. Contestée par NEBEL, qui n'a pu obtenir de résultat sur les poils staminaux de *Tradescantia*, cette découverte a été confirmée par P. et N. GAVAUDAN et J.-F. DURAND, en 1938. Ces auteurs ont analysé l'inhibition du fuseau, ses conséquences: blocage à la métaphase, avec chromosomes déjà clivés (ceux-ci se trouvant dans une gangue de substance fusoriale amorphe correspondant à un fuseau sans fibrilles), évolution vers la polyploïdie.

C) NAPHTALÈNE (GAVAUDAN et DURAND)

L'étude systématique des dérivés du noyau naphtalène aurait dû commencer par celle de ce dernier.

L'ingestion de naphthalène par des Lapins en gestation cause chez les petits une cataracte qui peut se transmettre héréditairement. Ce corps était donc connu comme lésant électivement certains tissus (cristallin et cornée du Lapin). GAVAUDAN et ses collaborateurs ont retrouvé pour lui des propriétés semblables à celles de l'acénaphène, avec une toxicité plus grande que pour ce dernier corps et une activité en apparence moindre. Ils ont observé toutes les transitions entre les mitoses normales et les mitoses anormales, selon que l'altération du fuseau a été plus ou moins discrète: les cloisonnements obliques par modification de l'axe divisionnel,

la pluripolarité, les ponts internucléaires, les noyaux irréguliers et découpés sont dus à une action plus ou moins ménagée. Rappelons qu'on les obtient aussi par l'effet du chloral et de la colchicine à doses faibles.

Dans des travaux ultérieurs, les auteurs ont pu voir que de faibles doses ou des expositions courtes et répétées aux vapeurs de naphthalène peuvent cependant induire la polyploïdie, comme le fait la colchicine.

D) DIPHÉNYLE (GAVAUDAN et DURAND)

Son action, analogue à celle du naphthalène, est cependant beaucoup plus faible. Or, le diphényle, bien que comportant deux noyaux cycliques, n'a pas la même structure que le naphthalène. Donc les ressemblances de structure chimique sont insuffisantes pour expliquer les analogies d'action.

E) PARADICHLOROBENZÈNE (SIMONET et GUINOCHET)

Ce corps, utilisé en Agriculture contre certaines maladies des arbres, pour tuer les parasites, a montré une action particulière. On sait, en pharmacodynamie, qu'il lèse la cellule hépatique et peut aussi provoquer la cataracte. Chez les Végétaux, il laisse évoluer normalement le mécanisme de la mitose, mais produit un désordre de la cytodierèse et du cloisonnement, de telle sorte que la membrane ne se forme pas et qu'on obtient des cellules bi, tri, ou pluri-nucléées.

Les auteurs opposent deux types d'action :

a) Le type *colchicinique* (colchicine, acénaphène, phényluréthane, α monobromonaphthalène), qui est dû à une action sur le fuseau, d'où cinèses déformées, bloquées et accroissement du nombre de chromosomes, donc de la taille des noyaux.

b) Le type *paradichlorobenzénique* (que donnent aussi le monochlorobenzène, les ortho, méta et para-dichlorobenzène, le monobromobenzène, les ortho et méta-chlorotoluène) qui est dû à une action sur le *cloisonnement* et la formation de la membrane, respectant le mécanisme de la mitose et aboutissant à des cellules plurinucléées.

Mais ce qui devient intéressant, c'est que GAVAUDAN et DURAND ont pu obtenir par une action plus massive et plus prolongée du paradichlorobenzène des caryocinèses anormales, soit pluripolaires, soit de type nettement colchicinique. Mieux encore, un même corps chimique peut produire l'un des deux types, sur un matériel et l'autre sur un matériel différent.

Nous donnons ci-dessous la liste des corps déjà étudiés, liste qui ne peut être que provisoire, en raison des nombreux travaux qui paraissent chaque jour sur cette question :

<i>Toluène ou méthylbenzène.</i>	SIMONET et GUINOCHET	} très toxiques
<i>Phénol.</i>	—	
<i>Phényluréthane</i> (ester éthylique de l'acide carbanilique).	LEFÈVRE	
<i>Phénylacétamide.</i>	SIMONET et GUINOCHET	
<i>Citrate d'oxyéthylphénylacétamide.</i>	—	
<i>Phényléthylmalonyturée.</i>	—	
<i>Méthylphénylacétamide</i> (0,5 %).	—	} peu actifs.
<i>Ethylurétane</i> (1 cgr. en vapeur).	—	
<i>Oxyéthylparaphénylacétamide</i> (sol. aqueuse saturée).	—	
<i>Salicylate de phényle</i> 0 gr. 01 à 0 gr. 1).	—	

<i>Phénantrène.</i>	GAVAUDAN	action due à des impuretés.
<i>Diphénylméthane.</i>	GAVAUDAN et DURAND.	} actifs mais trop toxiques.
<i>Oxyde de phényle.</i>	— —	
<i>Benzophénone.</i>	— —	
<i>α bromonaphtalène.</i>	SCHMUCK, KOSTOFF.	} m ê m e toxicité que l'acénaph-tène.
<i>α chloronaphtalène.</i>	GAVAUDAN et DURAND.	
<i>5 bromonaphtalène.</i>	SCHMUCK, KOSTOFF.	
<i>Acénaphtylène.</i>		
<i>β naphtyléthers.</i>		} moins toxiques mais moins actifs que la naphtalène.
<i>β naphtylméthyléther ou Yara-Yara.</i>		
<i>β naphtyléthyléther ou Bromélia.</i>		
<i>Acide α naphtalène acé- tique.</i>	LEVAN.	
<i>β chloronaphtalène.</i>	GAVAUDAN et DURAND.	} derniers dérivés halogénés étu- diés.
<i>β bromonaphtalène.</i>	SIMONET et GUINOCHE	
<i>Paradichlorobenzène.</i>	— —	
<i>Paradibromobenzène.</i>	— —	
<i>1, 3, 5, trichlorobenzène (très actif).</i>	— —	
<i>2, 4, 6, trichloroaniline.</i>	— —	
<i>1, 3, 5, tribromobenzène.</i>	— —	
<i>2, 4, 6, tribromoaniline.</i>	— —	
<i>Orthonitrophénétol.</i>	GAVAUDAN et DURAND.	
<i>Musc xylène.</i>	SIMONET et GUINOCHE	
<i>Apiols.</i>	— —	
<i>Ethylphosphate de mer- cure.</i>	SASS.	
<i>Anéthol.</i>	LEFÈVRE.	
<i>2, 4, dinitrophénol.</i>	CLOWES, KRAHL, et KELTCH.	même action que la colchicine.

Parmi ces dérivés chimiques, notons en passant la présence de substances utilisées en pharmacologie, telles que la phényléthylmalonylurée, les apiols, les dinitrophénols et, en thérapeutique végétale, comme le paradichlorobenzène.

Au cours de ces recherches, les auteurs ont pu éliminer de cette liste certains produits inactifs, comme la

morphine, la codéine et l'éphédrine (toutes trois en solution à 0,4 %), le fluorène, le carbazol, le 7-isopropyl 1-méthylphénantrène ou rétène, le priphénylmétane, l'antracène, le stilbène, la cétone de MICHLER.

Une étude systématique, faite par les GAVAUDAN et leurs collaborateurs, est actuellement en cours, elle est basée sur la modification systématique des formules chimiques.

CONCLUSIONS

1° *Sur la manière dont tous ces corps modifient la division*

On peut concevoir toute une série d'effets, dus à des actions toxiques croissantes (par la dose ou par la toxicité naturelle des produits), dont des expériences nombreuses, déjà faites par des auteurs différents, nous présentent une gamme très variée.

a) Au minimum, le toxique provoque une simple modification du cloisonnement cellulaire (type paradichlorobenzène de SIMONET et GUINOCHE), sans toucher au fuseau;

b) Une action un peu plus énergique atteint le fuseau, *sans le détruire* (début d'action et doses faibles pour beaucoup de substances), d'où cloisonnements aberrants obliques ou perpendiculaires, tuméfactions et troubles de la croissance, *sans arrêt* de celle-ci;

c) Un degré de plus, et le fuseau persiste, bien qu'altéré: d'où pluripolarité, ponts entre les noyaux-fils, etc.;

d) Si le toxique est plus actif, il inhibe la formation du fuseau, d'où blocage de la mitose, soit avant la métaphase (colchicine), soit au début de celle-ci (chloral). Il y a souvent formation d'une zone hyaline périchromo-

somiale, ayant comme origine le fuseau. Si le toxique cesse d'agir, ou si son action se limite au fuseau, on peut, chez les Végétaux du moins, aboutir à une polyploïdie expérimentale;

e) Un toxique très actif inhibe évidemment le fuseau, mais ralentit en outre les phases mitotiques, et s'il altère la chromatine elle-même, la reconstitution sur place d'un noyau tétraploïde est impossible, la plupart des noyaux dégénérant;

f) Un toxique agissant très vite et directement inhibe même l'entrée en mitose, qui est détruite dès son début (rayons X et peut-être trypaflavine).

2° *Sur le mécanisme intime physicochimique des troubles de la mitose*

Quelle que soit la manière dont on aborde le problème des troubles mitotiques expérimentaux, on arrive à cette conclusion que les différences de formule chimique n'ont pas l'importance qu'on tendrait à leur attribuer. Qu'on choisisse comme objet d'étude les carbures cycliques mito-inhibiteurs, les carbures cancérogènes ou les substances œstrogènes, on peut établir de façon formelle qu'aucun noyau cyclique, aucune structure chimique précise, n'est indispensable à l'apparition de l'une de ces trois propriétés. « Depuis longtemps, dit GAVAUDAN, la convergence d'action nous semble due à des similitudes de propriétés physiques. Il existe des faits qui permettent de penser que l'action des plus actifs des dérivés du naphthalène, du type colchicinique, ne diffère que quantitativement de substances d'activité moindre, telles que le diphényle et le paradichlorobenzène ». On se rappelle que nous essayions nous-même

de proposer une explication analogue au sujet de l'action de la trypaflavine.

D'autre part, l'acénaphène n'apparaît pas au premier abord comme un toxique pour les animaux, à la façon de la colchicine: KOSTOFF a pu l'injecter sans dommage au Lapin et à la Souris. Mais GAVAUDAN, l'essayant sur la Grenouille à l'état de vapeur à 20°, a pu obtenir un effet narcotique faible, mais évident. Si l'on rapproche cet effet de celui de substances mitoinhibitrices bien connues, comme le chloral, on retrouve cette liaison entre la cytotoxicité et l'action hypnotique, qui suggère un effet direct sur les cellules nerveuses, par modification de la perméabilité cellulaire. L'étude de certaines constantes physicochimiques montre que l'hydrosolubilité, une certaine élévation du point de fusion, un point d'ébullition compris entre certaines limites, c'est-à-dire un degré raisonnable de tension de vapeur, peuvent être favorable à l'action mitoinhibitrice. En partant de ces notions théoriques, GAVAUDAN a pu arriver à découvrir de nouveaux corps actifs sur la caryocinèse, en alourdissant la molécule d'autres substances. Il a ainsi montré les propriétés du vératrol, du safrol, des apiols. Cette concordance entre l'hypothèse et le succès expérimental nous paraît assez éloquente. Arrivé à ce point, on pouvait se demander comment de simples modifications physiques pouvaient troubler le mécanisme de la cytodierèse. En abordant ce problème, le plus simple et le premier de tous dans l'échelle des toxicités, on se trouve en présence de diverses théories. Celle de SPEK fait jouer un grand rôle aux mouvements cytoplasmiques dans le clivage de la cellule animale, et cet auteur a donné un schéma simple de ce que doivent être les courants d'action pendant le cloi-

sonnement: la formation de la membrane serait précécée d'une irruption de cytoplasme granuleux dans l'espace équatorial, atteignant son maximum d'intensité quand les deux groupes de chromosomes sont arrivés aux pôles. La formation de la cloison intercellulaire ne serait donc pas en rapport avec la persistance des restes du fuseau de caryocinèse, comme le veut la théorie classique. Mais alors on comprend comment des altérations, causées par une intoxication relativement faible, comme la rotation ou la déviation de l'axe des mitoses, apparaissent comme dues à un trouble physique apporté à la direction et à l'intensité des courants d'action. Si nous nous rappelons que ces modifications de l'axe cinétique sont particulièrement nettes et intenses sous l'influence de l'hydrate de chloral, et comme, d'autre part, MILOVIDOV a rapproché l'effet de ce dernier de l'action du dessèchement cellulaire, qui augmente la viscosité protoplasmique, on conçoit que la dissymétrie des mouvements cytoplasmiques, des courants d'osmose intra-cellulaire et les troubles du champ électrique peuvent être la cause de ces modifications.

En arrivant à cette conception, qui sera confirmée par les observations de CORNIL et POURSIDES, sur les épithéliomas, dans lesquels l'axe de la mitose n'a pas d'orientation homogène, on comprendra à quels rapprochements fructueux pour les recherches de l'avenir peut amener l'étude de la cytotoxicologie expérimentale, par ses aperçus sur la cytopathologie. C'est pourquoi un tel courant d'idées a amené certains auteurs à réviser leurs notions théoriques sur le mécanisme d'inhibition de la mitose et à considérer les altérations du fuseau comme secondaires et non primitives.

De même que l'analyse expérimentale de l'Embryologie et du développement de l'œuf ont conduit à la découverte de l'organisateur et rejoint par un étonnant détour l'étude des substances cancérigènes, de même on peut espérer que cette science naissante, la cytotoxicologie, éclairera un jour les notions les plus obscures sur la pathologie de la mitose et son déterminisme.

En attendant, il convient d'en tirer parti, de connaître ses applications possibles en Biologie et surtout d'en préciser les lois, pour posséder des réactions faciles à interpréter et pour avoir la clef de ces problèmes que tout médecin trouve devant lui : la génèse, la biologie et la thérapeutique du Cancer.

X. — DERNIERS VENUS: LES SULFAMIDES

Les corps sulfamidés, derniers venus de la chimiothérapie, devaient bien, en raison de leurs propriétés, susciter la curiosité de quelques chercheurs. Ici encore, ce sont des organismes inférieurs ou des Végétaux qui ont servi les premiers de matériel d'essai. Sur des Bactéries, LOCKWOOD avait observé une hypertrophie considérable des corps bactériens. Sur un Phytoflagellé, *Polystomella cæca*, LWOW, NITTI, Mme TRÉOUEL et Mlle HAMON ont montré qu'une proportion de 20 milligrammes par litre arrête la prolifération des cellules, tandis que leur volume augmente considérablement. Chez ces Protistes, le toxique se comporte comme inhibant le mécanisme de la division cellulaire, sans arrêter, au moins immédiatement, celui de la croissance.

Chez les Végétaux, MANGENOT et Mlle S. CARPENTIER ont utilisé des solutions de paraaminophénylsulfamide et d'acide paraaminobenzoïque, à des concentrations

variant entre M/1.000 et M/100. Il s'ensuit une hypertrophie diamétrale des racines, comparable à celle que l'on obtient par la colchicine, mais, contrairement à celle-ci, l'aspect histologique des dégénérescences cellulaires obtenues est très différent: il y a une nécrose brutale des cellules médullaires avec pycnose des noyaux, tandis que les éléments restés vivants subissent une augmentation de volume parfois considérable (cellules géantes² de 120 μ de diamètre), qui va jusqu'à écraser les cellules nécrosées. Les cellules hypertrophiées se disposent en rosette autour de ces dernières, aspect très caractéristique de l'action des sulfamides. L'activité mitotique est ralentie, mais le cours des mitoses n'est nullement troublé. Si ces expériences se confirment chez les animaux, il ne faudra pas attendre des sulfamides une action comparable à celle de la colchicine. L'inhibition de la division, observée chez des Protistes, ne se retrouve pas ici.

CHAPITRE IV

APPLICATIONS BIOLOGIQUES : LA RÉACTION COLCHICINIQUE

I. - Applications à l'étude des phénomènes d'hyperplasie cellulaire et de régénération

Peu importent les idées qu'on peut avoir sur le mode d'action de la colchicine. Peu importe que l'on accepte la théorie de DUSTIN, qui en fait un réactif de l'imminence caryocinétique, ou celle des auteurs américains, qui y voient un moyen d'arrêter pendant un certain temps toutes les divisions susceptibles d'apparaître dans un tissu. Un fait est certain, c'est qu'on en voit un très grand nombre là où, normalement, il n'y en aurait qu'une ou deux, et qu'on en trouve quelques-unes là où d'habitude elles passent inaperçues. La présence dans un organe quelconque de ces multiples petites boules chromophiles, entourées d'un halo clair, est une observation facile à faire, d'où le succès de ce « test colchicinique » comme manière d'objectiver la capacité de

prolifération d'un tissu à un moment donné. Cette vogue de la réaction colchicinique a engendré de nombreux travaux, auxquels s'en ajoutent chaque jour de nouveaux et qui ont paru simultanément dans tous les pays, surtout en Belgique et en Amérique.

La technique de ce test est très simple. Supposons que l'on veuille observer l'hyperplasie provoquée par une hormone dans un organe donné. On fait agir l'excitant hormonal spécifique jusqu'au moment où on veut étudier son effet, et l'on injecte, neuf à dix heures auparavant, le réactif colchicinique, qui bloquera toutes les divisions pendant ces neuf heures. On pourra donc avoir avec certitude une mesure assez précise de l'action de l'hormone sur la prolifération cellulaire. La dose de colchicine employée a été codifiée par DUSTIN, elle est de $1/40^e$ de milligramme par vingt grammes de poids d'animal.

Il ne faut pas croire que ce test ait une valeur absolue. Grâce à lui, on interroge la capacité de prolifération dans un tissu et rien que cette propriété; cela ne suffit pas à préciser les autres activités de l'hormone, par exemple son action sur la différenciation cellulaire ou l'excitation d'une sécrétion (apparition de grains de sécrétion). Mais comme presque tous les phénomènes sécrétoires s'accompagnent de divisions cellulaires destinées à renouveler les cellules usées, surtout dans les glandes holocrines ou méro-holocrines, ce renseignement a tout de même une grande valeur. Evidemment, la signification générale de la réaction se trouve subordonnée à la généralité d'action du toxique. Mais comme nous savons que celle-ci a été vérifiée dans toutes sortes d'organes, chez des animaux et même des végétaux, on

peut lui accorder une régularité, une fixité vraiment très grandes.

**1° Hyperplasie de régénération en biologie
et en pathogénie expérimentale**

A) Cicatrisation

Cette étude a été faite par DUSTIN et CHODKOWSKI, de 1937 à 1939. La méthode employée était très simple : les auteurs faisaient dans la région dorsale de jeunes Rats de petites incisions, dans lesquelles était placée une boulette d'aleurionate de Hundhaus, stérilisée par un séjour dans l'alcool absolu, puis la plaie était suturée. On obtenait ainsi une cicatrice cutanée et un granulome aseptique, provoqué par la présence de l'aleurionate.

Comme on pouvait s'y attendre, ce granulome expérimental devenait rapidement le centre d'une zone de sensibilisation cellulaire à la colchicine. Mais ce qui était plus intéressant, c'est que certaines cellules étaient le plus souvent en division : celles de l'endothélium des capillaires et les histiocytes situés dans les mailles du tissu conjonctif, les interstices des fibres musculaires ou nerveuses. L'horaire de cette réaction a aussi son intérêt : débutant à la 9^e heure, elle est à son apogée le 1^{er} et le 2^e jour pour les cellules endothéliales, le 2^e et le 3^e pour les histiocytes. Dans les capillaires de petit calibre, les stathmocinèses arrivent à boucher la lumière du vaisseau. Il est possible que la sensibilisation de ces cellules à la mitose provienne de substances amenées du foyer de régénération (nécro-hormones?), peut-être de la désintégration des leucocytes. Ce qui semble le prouver, c'est la diminution de la sensibilisation, quand la phase d'inflammation proprement

dite est passée. En effet, lorsque le granulome est constitué, après deux à trois semaines, la colchicine n'y fait plus apparaître de divisions. Jamais il n'y en a dans les fibroblastes; en revanche, l'épiderme et les follicules pileux, les glandes sudoripares, réagissent très vivement autour de l'incision. Il n'y a pas de mitoses tardives.

Dans ces premières recherches, le test colchicinique a dévoilé, comme on pouvait le prévoir, l'importance du tissu réticulo-endothélial dans la régénération du conjonctif.

Chez les Batraciens, des faits analogues ont été vus par DELCOURT (présence de stathmocinèses dans la zone de réparation d'une ulcération).

B) *Hypertrophie compensatrice*

CARNOT et R.-M. MAY ont particulièrement étudié l'hypertrophie compensatrice du rein, après néphrectomie du côté opposé chez le Rat. Si, chez des animaux de 40 à 70 grammes, on pratique cette opération aseptiquement et que, au moment de l'hypertrophie supposée du rein opposé, on injecte de la colchicine, on observe qu'il y a dans la corticale de cet organe une grande quantité de mitoses, qu'il y en a moins dans la médullaire externe et encore moins dans la partie interne des pyramides. Ces mitoses sont en nombre maximum à la première semaine, puis s'abaissent.

Voilà une expérience qui a permis d'analyser et de préciser un fait biologique bien connu, mais dont on ignorait l'horaire et les lois.

C). *Limitation de processus ²⁴⁹⁸pathologiques
par la formation d'un barrage histiocytaire*

C'est pas hasard que DUSTIN avait découvert chez une de ses Souris d'expérience un kyste vermineux intra-hépatique, autour duquel la réaction histiocytaire, qui séparait ce kyste du parenchyme voisin, montrait une très vive réaction à la colchicine avec de nombreuses mitoses bloquées. Autour de ce corps étranger, il y avait une sorte de barrière histiocytaire en pleine prolifération.

DELCOURT a décrit chez *Rana* une zone riche en mitoses autour d'un *Nématode* parasite de l'intestin.

D) *Etude de la cirrhose expérimentale*

Il y avait un intéressant problème de pathologie expérimentale à explorer: celui de la cirrhose, provoquée par des agents toxiques. Quelle est, dans la formation du tissu définitif de sclérose, la part du tissu hépatique noble (prédominante d'après FIESSINGER) et celle du tissu mésenchymateux (prédominante d'après GYE et PURDY)? C'est ce que CAVALLERO a essayé de voir, en étudiant, au moyen de la réaction colchicinique, l'évolution d'une cirrhose, provoquée par des inhalations de tétra-chlorure de carbone.

a) Après une intoxication continue par inhalations répétées on voit apparaître une cirrhose dont les deux caractères sont: la néoformation scléreuse et la régénération des éléments nobles;

b) C'est le système des cellules de Küppfer, qui est le point de départ de l'hyperplasie du tissu de sclérose, comme le montre la sensibilisation de ces cellules à la réaction colchicinique, surtout autour des zones paren-

chymateuses nécrotiques, justement à l'endroit où commence la fibrose;

c) La régénération hépatique se fait surtout dans la région périphérique des lobules, tout près de l'espace porte, c'est-à-dire là où les cellules sont moins frappées par le toxique;

d) Jamais on n'observe de phénomènes cinétiques dans les néocanalicules biliaires, dont la formation appartient probablement aux cellules hépatiques: ceci prouve qu'il s'agit en réalité de pseudocanalicules;

e) Le poison cirrhogène ne borne pas son action au foie: le rein et le pancréas, la rate et les ganglions sont également le siège d'une hypertrophie mésenchymateuse suivie de sclérose; le tissu parenchymateux réagit au poison dans le foie, les reins et le pancréas;

f) Dans le système endocrinien, les parathyroïdes montrent une diminution de leur sensibilisation normale à la colchicine; les surrénales, au contraire, une augmentation, d'abord dans la corticale, puis dans la médullaire; l'hypophyse, une accentuation de la réaction, surtout dans les cellules chromophobes. Les îlots de Langerhans réagissent aussi. Ces phénomènes s'expliquent mal. Cependant, l'excitation mitotique de l'hypophyse antérieure est peut-être en rapport avec la régénération hépatique et l'excitation de la cortico-surrénale avec la dégénérescence graisseuse du même organe.

E) *Hématopoïèse et développement des organes hématopoïétiques*

DUSTIN a insisté, dans une communication faite à la *Société d'Hématologie*, sur l'intérêt qu'il y aurait à étudier par le test colchicinique la génération des élé-

ments du sang dans les organes hématopoïétiques. Malheureusement, cette étude est difficile. Car on connaît très mal l'action du toxique sur ces organes et, si elle est indépendante de l'effet mitotique, la leucocytose colchicinique risque de fausser les résultats. Pour cette raison, une telle recherche n'a pas été continuée.

F) *Etude de l'inflammation*

De l'étude des granulomes aseptiques, on peut déduire la possibilité théorique d'étudier l'hyperplasie dans l'inflammation. Ce sera l'œuvre de l'avenir.

G) *Etude de la régénération et de la croissance*

Certains auteurs ont étudié des animaux à régénération facile, tels que le Triton, qui peut reconstituer sa queue sectionnée. Quant aux phénomènes de croissance, en rapport avec l'activité des cartilages de conjugaison, ils n'ont pas été étudiés.

2° Hyperplasie cellulaire sous l'effet des injections d'hormones

En Endocrinologie la réaction colchicinique trouvait un terrain d'utilisation du plus haut intérêt. Il est en effet difficile de dire, d'une façon certaine, si un tissu a subi, du fait d'une incitation hormonale, un ordre de prolifération, car les mitoses, normalement très courtes et fugaces, peuvent passer facilement à côté d'une coupe dans un tissu quelconque.

La première observation sur ces faits remonte aux premiers travaux de LITS sur la colchicine. Cet auteur a trouvé dans l'ovaire de la Souris une intensité particulière de l'action mitotique sur les cellules de la granu-

losa et du corps jaune. Cette constatation fut attribuée plus tard à l'action des hormones gonadotropes sur ces cellules.

Mais c'est à l'Ecole Américaine, avec ALLEN et ses élèves, que revient d'honneur d'avoir appliqué les premiers cette méthode d'investigation à l'hormonologie.

A) *Action de la theeline ou œstrone
sur l'appareil génital*

On sait que cette hormone provoque normalement un accroissement des tissus de l'appareil génital femelle, spécialement de l'épithélium du vagin, de l'utérus et de la mamelle. La colchicine pourra donc être appliquée à l'étude de son action et c'est ce qu'ont fait ALLEN, SMITH et GARDNER, en 1937.

Chez les Souris ovariectomisées un mois avant et dont les tissus génitaux sont par conséquent en état d'atrophie avancée, on injecte, en une seule fois, cinquante unités internationales en solution huileuse. Or, si l'on examine l'appareil génital de 9 h. 1/2 à 37 heures après l'injection d'hormone, on constate que la colchicine y fait apparaître de nombreuses mitoses (signe d'hyperplasie), mais que cette réaction est absolument limitée aux tissus épithéliaux; les tissus musculaires, vasculaires et conjonctifs ne répondent pas du tout à la stimulation. Il s'agit d'une réponse exactement opposée à celle qu'a donné l'étude de la cicatrisation, où c'étaient des cellules de nature conjonctive qui subissaient la poussée proliférative. Toutes les parties de l'appareil génital répondent en bloc: le vagin montre cependant une réaction plus irrégulière et la glande mammaire, quelques mitoses dans les canaux galactophores, autour

du mamelon et dans certaines parties du tissu sécréteur. Il faut noter que la réaction épithéliale dans l'utérus est précédée d'un œdème du tissu conjonctif.

Dans toute expérience de ce genre, il faut prendre des tests. L'étude des cryptes intestinales, de l'épithélium trachéal, de l'épithélium pavimenteux stratifié de la partie cardiaque de l'estomac, enfin des bulbes pileux montrent que ces tissus réagissent très nettement à la colchicine. Si les autres glandes endocrines ne réagissent pas, c'est qu'elles n'ont pas reçu par conséquent le stimulus hormonal.

B) Action de la prolactine sur le jabot du pigeon

La prolactine est une hormone hypophysaire de nature protidique, capable de provoquer la montée lactée et d'entretenir ensuite la sécrétion lactée. Or, il se trouve que le jabot du Pigeon secrète au moment de l'incubation des œufs une substance caséuse blanchâtre, qui sera destinée à nourrir les jeunes Oiseaux à leur éclosion. Les études faites par divers auteurs, comme CHAMPY et COLLE, BROUSSY, ont analysé les caractères histologiques de cette sécrétion. RIDDLE a observé le développement du jabot par injections d'hormones hypophysaires, parmi lesquelles la plus active est justement l'hormone lactogène ou prolactine. Cette curieuse analogie entre la sécrétion du lait humain et celle du « lait de jabot » se manifeste par une croissance de l'épithélium, accompagnée de signes histologiques de sécrétion.

LEBLOND, en 1937, d'une part, LAHR et RIDDLE, d'autre part, ont utilisé la réaction colchicinique et constaté qu'elle fait apparaître des mitoses dans toutes les cellules de l'épithélium du jabot, mitoses qui s'aperçoivent même dans le tissu conjonctif et les muscles (fait tout

à fait exceptionnel, comme nous l'avons déjà vu). Cette hypercinétose atteint son maximum de la trentième à la cinquantième heure après l'injection, au moment du maximum d'intensité des phénomènes sécrétoires (apparition de globules lipidiques, diminution du rapport nucléo-plasmatique). Ce qui caractérise cette réaction, c'est sa différence avec celle de la glande mammaire humaine, qui répond à la même hormone par l'apparition de signes de sécrétion, sans signe d'hyperplasie. Chez les Mammifères, en effet, cette dernière est due à l'action des hormones ovariennes. LAHR et RIDDLE, utilisant la même technique chez des pigeons en pleine incubation, sans injection d'hormone, obtiennent les mêmes images après action de la prolactine, ce qui correspond à une augmentation de la sécrétion hypophysaire pendant la couvée (surtout sa première moitié).

C) *Action de la testostérone
sur l'appareil génital mâle*

En Allemagne, FLEISCHMANN, WALTER et KANN; en Belgique, BASTENIÉ et ZYLBERSZAC ont étudié l'action du propionate de testostérone sur les vésicules séminales du Rat impubère ou castré. Dans ces deux cas, l'hormone, à elle seule, provoque une hypertrophie de l'appareil génital et de l'épithélium des vésicules séminales (l'index mitotique est alors de 0,3 % par champ microscopique). Si l'on injecte de la colchicine on voit que la réaction provoquée par l'hormone est faible dans les cellules germinales, nette dans l'épididyme et intense dans les vésicules séminales (22 à 37 % par champ). En présence d'une réaction aussi nette, les auteurs ont proposé d'utiliser ce test pour le dosage biologique de l'hormone mâle.

D) *Action de la testostérone sur l'époophore du Cobaye*

Notre Maître, le Professeur F. GRANEL, s'est servi de la réaction colchicinique pour étudier la réponse de l'époophore, résidu wolffien, qui existe chez le Cobaye femelle, à l'injection de propionate de testostérone. Celle-ci provoque, dans cet organe, après injection de colchicine, l'apparition d'un grand nombre de stathmocinèses. Il en existe dans les glandes utérines et les cellules granuleuses des follicules ovariens, mais il s'agit de zones germinatives qui doivent réagir par conséquent dans toutes les conditions à l'alcaloïde. Il n'en est pas de même de l'époophore.

Le test colchicinique a donc permis de confirmer les travaux antérieurs sur l'hypertrophie de cet organe résiduel par injection d'hormones mâles et d'apporter une contribution nouvelle à l'étude des mécanismes de l'ambo-sexualité.

E) *Action d'extrait anté-hypophysaire sur la thyroïde*

BASTENIÉ et ZYLBERSZAC ont exposé une expérience cruciale qui montre l'hyperplasie thyroïdienne obtenue par l'injection d'extrait hypophysaire. Des Cobayes, tués neuf heures après injection de colchicine, montrent un indice mitotique de 6,3, pour trois sections de vésicules thyroïdiennes; s'ils sont au préalable traités par trois injections quotidiennes d'extrait anté-hypophysaire et sacrifiés le quatrième jour, ils montrent, en dehors des autres signes histologiques de stimulation, une activité mitotique assez forte (16,8 mitoses pour 100 vésicules). Mais ces divisions sont à tous les stades. Au contraire, si les animaux ont reçu en plus une injection de colchicine auparavant, il y a 119 mitoses pour

100 vésicules, et toutes sont bloquées à la métaphase. Cette expérience, d'une grande netteté, est d'autant plus intéressante que les divisions dans les vésicules thyroïdiennes sont très peu nombreuses dans les conditions normales.

F) *Action des hormones ovariennes
sur les parathyroïdes*

Une expérience analogue est faite pour décider si vraiment les parathyroïdes réagissent aux hormones ovariennes. Voici les index mitotique obtenus:

Rats normaux colchicinisés	15 à 20 par coupe
Rats castrés	4 à 8 par coupe
Rats castrés, injectés de folliculine, puis de progestérone et colchicinisés.	100 à 120 par coupe

G) *Action de l'extrait anté-hypophysaire
sur l'appareil génital femelle*

Après les injections intra-péritonéales d'extrait hypophysaire antérieur, une crise mitotique apparaît dans les cornes utérines et surtout dans les culs-de-sac glandulaires, mais elles sont rares dans l'épithélium de recouvrement. La réaction est d'autant plus vive que les animaux sont plus jeunes.

De toutes ces recherches, il faut retenir que la colchicine est très capable de servir de témoin pour étudier l'action de diverses hormones bien connues. Nous avons vu qu'on avait proposé de l'utiliser pour leur dosage. Nous allons voir maintenant comment elle permet de déceler les actions endocriniennes complexes au cours de la grossesse.

H) *Etude des glandes endocrines dans la grossesse*
(CAVALLERO)

On a peu de précision sur le siège et l'importance des stimulations hormonales déclenchées par l'état de gestation. L'étude de CAVALLERO réussit à donner d'intéressants renseignements sur ces interactions endocrinien-nes. Ici, encore, la colchicinisisation ne fait qu'accentuer un phénomène normal, en lui donnant une plus grande valeur quantitative.

La réaction intéresse :

a) Dans l'hypophyse, le lobe antérieur, très peu le lobe intermédiaire et pas du tout le postérieur. Dans la pré-hypophyse, les cellules chromophobes, « cellules de grossesse », sont principalement intéressées ;

b) Dans la thyroïde, les vésicules et même les amas cellulaires interstitiels, la sensibilisation est très vive dans cet organe ;

c) Dans les parathyroïdes, les cellules fondamentales.

A noter que pour ces trois glandes (hypophyse, thyroïdes et parathyroïdes), la réaction est d'autant plus nette que la grossesse est plus près de son début ;

d) Dans la surrénale, la corticale est atteinte (surtout la zone fasciculaire), à l'exclusion de la médullaire ;

e) Dans le pancréas endocrine, les cellules fondamentales chromophobes ;

f) Dans le corps jaune, l'action est faible mais augmente progressivement en proportion de l'âge de la grossesse ;

g) Dans les reins et le pancréas exocrine, même type de réaction ;

h) Enfin, dans le placenta, l'effet est très limité; on admet que le filtre placentaire bloque l'alcaloïde.

I) *Action générale des hormones sexuelles sur les caractères sexuels chez les Batraciens*

a) *Caractères sexuels secondaires:*

Chez les Anoures, un des caractères sexuels secondaires les plus nets est l'apparition sur le ponce du mâle en accouplement de callosités, où la colchicine permet de voir un grand nombre de mitoses.

b) *Atrésie des follicules:*

Dans l'ovaire de *Rana*, la colchicine montre un nombre de mitoses beaucoup plus élevé dans les follicules atrétiques, que dans les follicules normaux. On peut supposer que des produits de désintégration, provenant de l'ovocyte atrétique (nécro-hormones), produisent une stimulation des cellules folliculeuses.

II. - Applications à la Tératologie expérimentale

Au même moment, ANCEL et Suzanne LALLEMAND en France, G.-H. PAFF en Amérique, ont eu l'idée d'observer ce qui se passe, si l'on fait agir la colchicine sur des embryons de Poulet très jeunes.

Lés auteurs français, avec une dose minimum mortelle de 25 dixmillièmes de milligrammes, ont obtenu, soit une lordose de la partie moyenne du corps de l'embryon, par relèvement de la région caudale, soit, à un degré plus avancé, une cœlosomie totale, c'est-à-dire un aspect de l'embryon où les viscères sont à nu, par éversion de la paroi abdominale. Parfois, les parois ventrales éversées se continuent avec l'amnios, formant avec lui une cavité dorsale où se logent les membres. Cette

malformation, qui apparaît spontanément chez les Bovins, mais qui n'est pas connue chez les Oiseaux, s'observe chez l'embryon de Poulet, à la quarante-huitième heure de l'incubation, et chez 26 % des animaux colchicinisés.

Chez les embryons plus âgés, on obtient, cinq heures après, une lordose simple. Evidemment, on trouve chez eux des mitoses bloquées à la métaphase, surtout dans le tissu nerveux — observation que nous ferons plus tard chez les embryons de Batraciens. Si l'on examine les embryons 24 heures après l'injection de colchicine, toutes les cinèses sont en pycnose, particulièrement dans les régions sensibles aux toxiques, c'est-à-dire dans le renflement caudal, le tube neural, les derniers somites, l'ectoderme et la somatopleure. Parfois, l'incurvation dorsale n'existe pas, mais seulement la déhiscence de la paroi ventrale: on dit alors que l'embryon est cœlosomien. Ce type de déformation a été obtenu dans 45 % des cas.

PAFF, travaillant sur des embryons du même âge, obtient chez un petit nombre d'entre eux l'apparition de plusieurs tubes neuraux et d'un renflement de l'épiderme, où la colchicine fait apparaître de nombreuses mitoses, ce qu'il interprète comme une preuve de l'action excito-mitotique. Il observe aussi des torsions, qu'il attribue à un développement excessif et retrouve à peu près les mêmes zones de mitoses bloquées que celles qui sont signalées par les auteurs français (avec en plus les arcs branchiaux, le raphé amniotique, la vésicule auditive).

La critique qu'on peut faire à ces expériences est basée sur l'existence de traumatismes, que la meilleure

technique ne peut éviter, surtout dans des tissus si délicats. Ces petits chocs peuvent faire apparaître des zones de cicatrisation, qui seront plus tard le siège de régénération et, par conséquent, montreront des mitoses bloquées. Enfin, remarquons que des deux groupes de travaux que nous venons de citer, l'un conclut à l'excitation, l'autre à l'inhibition de la mitose.

III. - Applications à la Biologie Végétale

Nous avons précédemment étudié l'action de la colchicine sur les végétaux et l'induction de la polyploidie expérimentale grâce à cet alcaloïde. Quoique cette question sorte un peu du cadre de notre exposé, nous ne pouvons passer sous silence la très intéressante utilisation de cette découverte. En effet, les plantes polyploïdes ont des caractères qui les distinguent des diploïdes : leur taille, la grandeur de leurs feuilles et de leurs fleurs, certains caractères sexuels, comme l'hermaphroditisme ou la fertilité, l'épaisseur de leurs tissus qui les fait ressembler à des plantes grasses. On conçoit l'importance de l'application de ces faits en agriculture et BLACKSLLEE a pu obtenir par la colchicine des plantes polyploïdes, qui, par leur gigantisme et leurs caractères, diffèrent sensiblement de leurs congénères non colchicinisés.

On voit comment une découverte de Biologie générale peut avoir des applications nombreuses et imprévisibles.

CHAPITRE V

APPLICATIONS CLINIQUES ET THÉRAPEUTIQUES

Puisqu'il paraît démontré qu'un certain nombre d'agents chimiques sont capables d'arrêter le mécanisme de la division cellulaire et puisque un des caractères essentiels de la cellule néoplasique est sa prolifération désordonnée, sans tendance à la différenciation, on peut espérer empêcher celle-ci par l'application d'un des toxiques que nous avons étudiés, en comptant sur les causes de destruction cellulaire normale pour assurer la régression d'une tumeur qui ne répare plus ses pertes.

Cette application des poisons caryoclasiques n'avait pas échappé à DUSTIN, et LITS avait exposé dans ses premiers écrits sur la colchicine les espoirs qu'on pouvait fonder sur son action. D'ailleurs, cet alcaloïde n'est pas le seul agent qui ait été essayé. Dans l'étude d'un pareil problème, il faut tenir compte non seulement de l'action directe du toxique sur la cellule, mais encore de sa toxicité pour l'organisme entier, et surtout des différences

de sensibilité que peuvent présenter à son égard la cellule normale et la cellule néoplasique.

I. - Travaux préliminaires

DOMINICI, songeant aux rapports qui existent entre la goutte et le cancer, avait eu l'idée d'employer certaines préparations de colchique chez les cancéreux et semble avoir remarqué une amélioration parfois nette de l'état général.

AMOROSO, en 1935, rapporte le cas de cancéreux souffrant en même temps de crises aiguës de goutte, qui, traités par la colchicine, ont montré une régression rapide et incontestable des tumeurs, au moment des irradiations faites au cours de ces accès.

Frappé de ce fait, il injecte à des Souris porteuses de tumeurs greffées, des quantités faibles de colchicine, répétées tous les deux jours, pendant deux semaines — l'auteur ne donne pas d'ailleurs les doses utilisées. Les tumeurs d'animaux témoins se sont développées de façon tout à fait normale. Une autre application, faite sur un Chien porteur d'un épithélioma amygdalien spontané, a fait disparaître en un mois et dix jours cette tumeur qui évoluait depuis quatre mois.

DUSTIN, par son analyse des substances caryoclastiques, a donné la clef qui permettait de comprendre ces faits empiriques. A partir de ce moment, les travaux sur cette question se sont multipliés; ils se ressentent d'ailleurs des différences de conception qui ont trait à la théorie que l'on adopte sur l'action inhibitrice ou excitatrice de la colchicine. Malgré ces divergences, le fait que la plupart des cellules colchicinisées finissent tôt ou tard par être détruites, permet l'application théorique de la colchicine à la thérapeutique des néoformations.

II. - Application

des premiers agents caryoclasiques : arsenicaux et trypaflavine

Dès décembre 1925, une communication de DUSTIN, à la *Société de Biologie*, faisait connaître que les mitoses de l'adénocarcinome greffé de la Souris étaient plus résistantes à la trypaflavine que les mitoses des autres tissus. En même temps, il émettait quelques idées générales sur les relations qui existent entre le développement du cancer et les phénomènes de caryoclasie décrits par lui : pour qu'une tumeur s'édifie, il faut que l'organisme lui abandonne la quantité de nucléoprotéides histiogènes nécessaires à son accroissement, l'intervention du thymus et de la thyroïde (qui libère les protéines thymiques) se conçoit donc très bien et, par ce détour, fait la liaison avec les actions endocriniennes dans le cancer. L'auteur se demandait si les variations de la perméabilité cellulaire au cours de la mitose n'expliqueraient pas la pénétration d'un agent hypothétique (virus?), susceptible de déclencher la malignité. Il n'y aurait *a priori* rien d'étonnant à ce que les mêmes toxiques lèsent à la fois le réservoir nucléinien (thymus) et la masse de nucléo-protéides des tumeurs.

Si l'action de la trypaflavine semble prouver qu'il n'en est pas toujours ainsi, celle des arsenicaux allait confirmer, au contraire, cette hypothèse séduisante : DUSTIN et GRÉGOIRE, étudiant en 1933 l'action comparée de ces corps sur le sarcome greffé, type Crocker, de la Souris, concluaient que les cellules du sarcome

étaient très sensibles à l'action du cacodylate, la courbe des mitoses atteignant son maximum à la 24^e heure. Qualitativement, ces mitoses cacodyliques ont les mêmes caractères que les mitoses normales, mais, au 2^e jour, on en voit de très grande taille à côté de noyaux inégaux, géants ou nains, souvent de coloration foncée, tous aspects très différents de ceux qu'on peut observer dans les tumeurs témoins. Cependant, les télophases sont en nombre normal et la plasmodiérèse se fait le plus souvent correctement. A la lumière de ce que nous savons aujourd'hui sur le mode d'action de la colchicine, on peut penser que ces mitoses, d'apparence normale au premier abord, montrent probablement une prédominance du nombre de métaphases sur celui des phases terminales, donc un début d'action, et que par conséquent seule une étude statistique pourrait résoudre ce problème.

En juillet 1934, un second mémoire de DUSTIN confirmait l'action d'un troisième agent caryoclasique : la colchicine, sur le même type de sarcome greffé. Ici, l'action est tout aussi intense sur les cellules néoplasiques que sur les normales, le nombre de mitoses par champ augmente de façon énorme dans celles de la tumeur traitée. Mieux encore, après 48 heures d'action, alors que le thymus apparaît inversé, elle a diminué de volume, avec des mitoses de grande taille, tricentriques, qui semblent prouver que la nécrose s'est accentuée. Voilà donc que les travaux de DUSTIN rejoignent ceux de ses devanciers en les expliquant : « L'application de notre conception du thymus à la pathologie humaine, dit-il, ouvre encore d'autres horizons : les déviations et les altérations du cycle des nucléines, histiogènes ou éner-

gogènes, sont à peine soupçonnées à l'heure actuelle; lorsque nous les connaissons plus complètement, les tumeurs (maladies morphologiques) et la goutte (maladie chimique) du métabolisme nucléinien, nous paraîtront peut-être moins complexes. Et voici qu'aujourd'hui, par des voies différentes, mais cependant toutes dérivées de notre ligne de recherche fondamentale, nous sommes amené à constater que cette médication qu'on a appliqué à la goutte est en même temps un agent modificateur très actif du métabolisme des nucléoprotéïdes ».

III. - Action de la colchicine sur les tumeurs expérimentales

Les travaux sur la colchicine allaient se multiplier. Nous ne retiendrons que ceux qui ont apporté des éléments nouveaux, susceptibles de faire avancer la solution du problème. Afin d'avoir un moyen de comparaison entre les différents résultats obtenus, LITS a proposé ce qu'il appelle « *l'index mitogénétique* », c'est-à-dire le rapport du nombre de mitoses trouvées par champ microscopique dans un tissu donné, après action de ces produits, au nombre de ces mêmes mitoses dans un tissu identique n'ayant pas été traité.

Cet index, indépendant de l'appareil optique utilisé et du nombre absolu de mitoses dans le tissu étudié (qui est sujet à d'importantes variations), permet d'avoir une notion approximative du résultat obtenu.

A) TRAVAUX DE LITS SUR DIVERSES TUMEURS GREFFÉES (1935-1936)

LITS, expérimentant sur un carcinome épithélial de type mammaire, transplanté sous la peau du dos, cons-

tate, en 1935, que la colchicine, agissant au 20^e jour d'évolution de la tumeur, provoque dans les tissus de celle-ci les mêmes phénomènes que dans les tissus normaux. Mais les caryocinèses sont différemment touchées par la colchicine: les unes sont nettement empoisonnées, d'autres moyennement, certaines restent normales. Par la suite, beaucoup de ces cellules subissent une cytolyse (d'où effondrement de la courbe) et en même temps apparaissent des monstruosité cellulaires, telles que mitoses hyperchromatiques, chromosomes aberrants, cariodiérèses inégales avec ou sans plasmodiérèses, noyaux multilobés, bourgeonnants, cellules multinucléées.

Maintenant que nous connaissons mieux le mode d'action de l'alcaloïde, l'observation d'une figure donnée par LITS (*Arch. Int. Méd. Exp.*, 11, p. 875), rappelle tellement nos observations personnelles sur l'épiderme des Batraciens que nous tendrions à y voir un indice que la colchicine a agi lentement sur la tumeur (puisque l'image obtenue à la 24^e heure est celle d'une action du début). Ces aspects des mitoses intoxiquées sont explicables par le fait que la liaison vasculaire de la tumeur greffée avec les tissus de l'hôte est encore imparfaitement établie. En outre, ce que l'on sait aujourd'hui de l'apparition de monstruosité cellulaires et bien en concordance avec l'observation de telles anomalies dans une tumeur en régression, puisqu'elles sont des signes de nécrobiose et non de régénération.

D'ailleurs, le même auteur, étudiant le même type de carcinome mammaire, soumis à des injections répétées de colchicine, obtient une réduction considérable de la taille des tumeurs chez les animaux qui n'ont pas succombé à la gravité de l'intoxication.

Au cours de ses travaux sur la Souris, LITS avait étudié de petits adénomes sébacés, dont l'image histologique était celle d'adénocarcinomes. L'action de la colchicine sur ces tumeurs a été très vive et à la 22^e heure après l'injection, les mitoses étaient de type nettement intoxiquées (c'est-à-dire à un début de dégénération).

L'alcaloïde, chez le même animal, semble donc avoir mieux pénétré dans les tumeurs spontanées que dans les tumeurs greffées: notre théorie vasculaire semble en être confirmée.

B) TRAVAUX DE PEYRON, POUMAU-DELILLE ET LAFAY
SUR LA TUMEUR DE SHOPE DU LAPIN (1936-1937)

Les travaux de DUSTIN, AMOROSO, POULSON n'avaient pas abouti à une stérilisation complète d'une tumeur greffée, mais seulement à une régression relative.

C'est que l'évolution des tumeurs malignes utilisées était trop rapide pour que l'action de la colchicine ait le temps de se faire sentir. La tumeur de Shope, en raison de la lenteur de son développement et du virus inoculable qui en est la cause, représente un matériel beaucoup plus favorable, qui a donné de meilleurs résultats.

a) Au moyen de 7 à 10 injections, répétées trois fois par semaine, de 1 cm³ puis 1 cm³ 1/2 de colchicine en solution aqueuse, en donnant 12 à 15 mgr. au total, on obtient une disparition uniforme des tumeurs en trois à cinq semaines. Mieux encore les Lapins sont immunisés contre une nouvelle inoculation du virus de Shope, même répétée à trois reprises, et cependant leur immunité n'est pas une immunité anticancéreuse générale (on peut obtenir chez eux des cancers du goudron).

b) Le badigeonnage de la tumeur avec une solution aqueuse au 1/100^e, puis des onctions répétées avec une pommade colchicinée de concentration variable (1/20^e, 1/50^e, 1/100^e) donne les mêmes résultats.

c) Enfin, des animaux porteurs de tumeurs symétriques et traités d'un seul côté, montrent une régression de la tumeur colchicinée, alors que la tumeur témoin continue à s'accroître et devient maligne quelquefois. Il s'est produit une cancérisation tardive plusieurs mois après le traitement, chez un Lapin traité pendant trois semaines par la colchicine.

Ces résultats expérimentaux, si intéressants, tiennent, d'après les auteurs eux-mêmes, à la lenteur d'évolution et à la nature bénigne de la tumeur, au moment où elle a été traitée. La possibilité de cancérisation de cette tumeur — qui lui fait conférer le nom de papillo-épithéliome — ne peut être attribuée à la colchicine.

Enfin, les auteurs terminent l'exposé de leur travail d'une part en signalant la possibilité d'applications thérapeutiques humaines, d'autre part en mettant en garde contre des espoirs prématurés, car la colchicine devrait être donnée à des doses très toxiques et pendant très longtemps; enfin, ils considèrent celle-ci comme un adjuvant utile de la radiothérapie.

C) TRAVAUX DE CLEARKIN (1937)

Cet auteur conclut que la colchicine aux doses usuelles n'a pas d'effet inhibiteur sur la croissance du sarcome S 37 de la Souris *in vivo*, la croissance *in vitro* de tissus tumoraux, obtenus à partir d'un animal traité par la colchicine, étant inhibée jusqu'à un certain point. Le sarcome S 37 serait moins touché par le toxique que beaucoup de tissus normaux.

D) TRAVAUX DE E. BOYLAND ET M.-E. BOYLAND (1937)

S'attachant à un autre aspect de la question, ces auteurs ont constaté qu'en approchant des doses toxiques on obtient avec la colchicine des hémorragies dans les tumeurs greffées, accompagnées de réduction de l'acide ascorbique qu'elles contiennent et de leur métabolisme. Cette action est semblable à celle d'un filtrat de Bacille typhique: il y a réduction de l'acide ascorbique dans le foie et l'intestin des Rats et des Souris utilisés, mais pas de trouble du métabolisme hépatique.

E) TRAVAUX DE BRUES ET JACKSON (1937)

Etudiant, à leur tour, le sarcome 180 de la Souris, les auteurs américains constatent, deux heures après injection de 0 mgr. 025 de colchicine, des figures mitotiques, la plupart en métaphase, dont l'examen attentif montre qu'il s'agit de mitoses colchiciniques.

Ce qui mérite d'être noté, c'est que ce genre de figures s'observe dans les zones périphériques de la tumeur, alors que dans son centre le nombre et l'aspect des divisions cellulaires est parfaitement normal. Cette curieuse constatation, qui pourrait être qualifiée de « sensibilité différentielle », semble devoir être attribuée, au contraire, — et c'est l'opinion de BRUES et de JACKSON eux-mêmes, — à une pénétration moins grande du médicament dans la zone centrale et à ce que les mitoses y sont normalement moins nombreuses. Mais cette dernière explication n'a qu'une valeur secondaire, puisque le nombre des métaphases dans la zone périphérique est nettement plus élevé que dans la zone centrale, cette différence de rapport entre les phases veut dire nettement que le médicament a agi dans celle-là et

non dans celle-ci. Cependant, même à la périphérie, on observe encore quelques ana- et télophases, preuve que l'action n'a pas été très forte; il n'en est pas de même, par exemple, dans le foie en régénération après hépa-tectomie partielle, où les figures obtenues par la colchicine sont constituées uniquement par des métaphases bloquées.

F) NOUVELLES RECHERCHES DE LITS (1938)

A son tour, LITS va essayer d'obtenir une régression complète du néoplasme. Il se sert pour cela d'une tumeur maligne lymphoïde greffée, dont la souche était apparue primitivement chez une Souris femelle après action du benzoate d'équiline, injecté à la dose de 3 mgr. 9. Transplanté sous la peau de l'aisselle et transmis en série pendant 13 générations, ce néoplasme expérimental était traité par la colchicine à partir du 14^e jour, à la dose de 1/40^e de milligramme dans un demi-centimètre cube d'eau distillée. Les injections étaient toujours faites sous la peau, en un point éloigné de la tumeur. La régression des lésions, qui peut être due à une nécrose spontanée (elle apparaîtrait seulement au 23^e jour de l'évolution) se produit pendant 2 à 3 semaines, la survie des animaux étant de 50 jours, au lieu de 31 jours pour les témoins non traités.

L'étude histologique des tissus néoplasiques montre que cette régression est due à ce qu'on a déjà appelé un « choc caryoclasique »: les lymphocytes de la tumeur deviennent pycnotiques et meurent. Les éléments réticulés sont plus résistants au traitement, de même que certains foyers lymphocytaires, ces deux sortes de tissus ayant pourtant la valeur de cellules néoplasiques.

Enfin, l'auteur se demande s'il y a des différences de sensibilité à la colchicine, suivant que les cellules lymphoïdes sont normales ou néoplasiques. Les lymphocytes des tumeurs seraient beaucoup plus sensibles que les normaux et le deviendraient même de plus en plus.

En définitive, l'effet obtenu ne pouvait être considéré comme curatif, puisque des récidives survenaient au bout d'un certain temps, l'arrêt de l'évolution tumorale n'ayant pas été observé au-delà d'une durée de cinq semaines. LITS en déduit que l'existence des sensibilités différentielles mises en évidence par DUSTIN, à propos de la cellule néoplasique, pour la tryptaflavine peut expliquer d'une part les échecs de CLEARKIN et LUDFORD et par ailleurs, permet tous les espoirs au sujet d'une efficacité thérapeutique de la colchicine sur le cancer. La différence de sensibilité entre les cellules lymphoïdes de la tumeur et les lymphocytes normaux est donc une notion d'intérêt évident pour l'avenir.

IV. - Action de la colchicine sur les tumeurs humaines

Depuis le premier mémoire de DUSTIN et les observations de DOMINICI, aucune étude systématique n'a été faite sur les tumeurs humaines. Sans doute DUSTIN a-t-il observé, en examinant les biopsies, une action très nette de l'activité mitotique; il s'agissait de cancers du col utérin traités par injections sous-cutanées quotidiennes de 2 mgr. de colchicine pendant trois jours. OUGHTERSON, TENNANT et HIRSCHFELD ont observé le même fait chez des cancéreux ayant des lésions accessibles à la biopsie, après injections sous-cutanées et intra-

musculaires de colchicine: l'index mitotique, dans un adénocarcinome du côlon sigmoïde, augmente de 700 % à la douzième heure.

Tous les auteurs qui ont effleuré cette question ont été arrêtés par la toxicité du produit pour l'organisme en général et par le fait que les doses caryoclasiques dépassent la dose minimum mortelle. Nous verrons s'il est possible pour le cas de la colchicine de tourner cette difficulté.

V. - Autres manières d'appliquer à l'étude du cancer la réaction colchicinique

DUSTIN a souligné l'intérêt qu'il y aurait à se servir du test colchicinique pour saisir le début de l'hyperplasie cellulaire qui aboutit à l'apparition d'une tumeur et par conséquent les premiers stades de la cancérisation. L'analyse de l'action des carbures cancérigènes pourra tirer parti d'une telle méthode.

Des recherches ont été commencées dans ce sens par HAVAS, qui a étudié l'effet du méthylcholantrène, cancérigène bien connu, qui provoque chez le Rat une augmentation du taux des divisions et rend certaines cellules plus sensibles à l'action de la colchicine.

VI. - Autres applications à la pathologie humaine

On sait que les leucémies ont été considérées parfois comme des « tumeurs du sang ». Un essai d'application de la colchicine à leur traitement a été fait par J. BERNARD, en 1939, dans un cas de leucoblastose aigüe: six injections de 1 mgr. chacune, faites à trois jours d'in-

tervalle, ont abouti à des modifications qui montrent une baisse importante et progressive des leucoblastes, l'apparition et l'élévation régulière de myélocytes et de normoblastes, toutes modifications qui se passent à la fois dans le sang et la moelle, prélevée par ponction sternale. Ces faits intéressants demandent à être confirmés et l'on conçoit l'intérêt majeur qu'ils présentent pour la thérapeutique des leucémies.

Une application moins heureuse de la colchicine a été faite par NICAUD, TAURET et TOULET. Ceux-ci, se basant probablement sur l'existence d'une leucocytose colchicinique et sur l'idée, trop vite répandue, que la colchicine stimule la division cellulaire, ont cru pouvoir traiter une anémie benzolique grave avec leucopénie massive, par cet alcaloïde. Inutile de dire qu'ils n'ont trouvé aucune élévation, même légère, du chiffre des globules et que les leucocytes ont continué à s'abaisser jusqu'à 800 mm³. Au cours de la discussion qui suivit, à la *Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, M. LENÈGRE a cité un cas personnel, où l'action sur la leucocytose a été nette, quoique transitoire, et sans influence sur le pronostic. Cette observation montre à quels échecs on s'expose en appliquant à la clinique une théorie de pharmacocynamie cellulaire, alors qu'elle est encore imparfaitement établie.

VII. - Application d'autres toxiques à la thérapeutique des tumeurs

Sans oublier les arsenicaux et la trypaflavine, dont nous avons déjà parlé, les premiers étant d'ailleurs connus depuis longtemps, nous signalerons comme

application clinique de ces corps à la thérapeutique du cancer celle du *bleu d'isamine*, utilisé par BERNHARDT et ROOSEN, du *benzol* appliqué aussi dans les leucémies et, comme autre application clinique, celle de l'*acétate de thallium*, employé pour obtenir rapidement et complètement la chute des cheveux.

VIII. - Appendice :

action sur les tumeurs végétales

L'analogie qui existe entre les tumeurs végétales « crown-galls » ou « phytocarcinomes » et les tumeurs animales, a incité L. HAVAS à chercher si cette analogie se vérifie aussi dans l'action de la colchicine. En outre, la plus grande taille de la cellule végétale en fait un matériel cytologique de premier choix.

Le phytocarcinome de la tomate est obtenu par inoculation de *Bacillus tumefaciens*. L'introduction de la colchicine se fait par l'absorption, due à la pression négative de la sève, dans une languette de tige découpée et placée dans le tube de solution, tout en restant adhérente par le haut au reste de la tige. On s'est servi aussi d'une pâte lanoline-colchicine et d'une solution aqueuse de colchicine, soit par la technique ci-dessus, soit par arrosage; enfin, d'un dialysé de semences de colchique.

Les solutions employées étant d'abord au 1/1.000^e ont dû être réduites au 1/10.000^e, l'absorption totale correspondant à 25 mgr. environ.

L'influence inhibitrice sur le développement de la tumeur est excessivement nette. Elle n'est pas due à la toxicité du produit. Elle n'a pas provoqué l'apparition

de cette néoformation subterminale pseudo-néoplasique, que l'on a souvent observé chez les Végétaux. D'après l'auteur, les analogies expérimentales font penser que la colchicine a agi comme une phytohormone, et il admet qu'elle est un excitant de la division cellulaire.

Pour expliquer son action sur la tumeur, il fait intervenir son antagonisme avec le *Bacillus tumefaciens* et les troubles dans l'apport des substances nutritives.

SOLACULU et CONSTANTINESCO, étudiant ce même problème, ont découvert que l'action inhibitrice était due en réalité à l'apparition d'un méristème isolant, bientôt subérifié, qui interrompt la continuité biologique entre la tumeur et la plante.

L'étude de ces applications pathologiques nous montre combien les expériences déjà faites laissent de place à des hypothèses invérifiées. Elle prouve surabondamment qu'on ne peut appliquer un agent chimique à un problème thérapeutique sans en connaître au préalable le mode d'action avec la plus grande précision possible. Pour avoir oublié ce principe, la thérapeutique est restée trop souvent une science empirique.

Toutefois nous devons provisoirement conclure, et voici les réflexions qui découlent de la lecture de tous ces travaux :

1° Avant de parler de sensibilités différentielles entre les tissus normaux et néoplasiques, il faudrait savoir par des méthodes de dosage chimique de quelle façon la colchicine arrive au contact des cellules dans les différents tissus et si telle ou telle de ses propriétés ne lui confère par une affinité particulière pour un tissu donné. Autrement dit, il faut préciser si la différence de sensibilité vient des cellules ou des voies que peut emprunter le toxique pour les atteindre ;

2° Afin de tourner cette difficulté, il conviendrait, avant toute chose, de se servir pour l'expérimentation de cultures de tissus. Cette méthode a aidé à comprendre l'action de la colchicine sur les tissus normaux. Ne pourrait-on l'appliquer aux tissus néoplasiques?

3° En admettant que cette action soit aussi homogène pour les divers types de cancers que pour les multiples tissus de l'économie, il faut se rappeler que leur activité mitotique, la valeur de cette activité (mitoses normales ou mitoses monstrueuses) sont excessivement variables et, par conséquent aussi, l'action des corps mito-inhibiteurs;

4° Comme le fait très justement remarquer DUSTIN, il ne suffit pas, pour qu'un cancer régresse, d'y arrêter les divisions cellulaires, il faut encore que la tendance à sa régression spontanée ait le temps de se manifester, et comme la colchicine ne peut agir qu'au moment où elle est injectée, il faut un traitement répété pour bloquer toutes les divisions;

5° Le problème de l'action thérapeutique de la colchicine est d'abord un problème de toxicité; si l'on est sûr qu'elle détruit les mitoses néoplasiques, on peut admettre qu'un arrêt provisoire des mitoses de régénération dans les tissus normaux soit un moindre mal, sans conséquences immédiates. Mais il ne faut pas que le remède soit pire que la maladie qu'on veut traiter, et l'intoxication colchicinique, immédiatement plus grave que le cancer. Trouver un agent dont la marge de toxicité et la marge d'action sont assez éloignées, est le problème éternel de la pharmacologie;

6° C'est aussi un problème de pénétration; il ne suffit pas d'injecter un médicament, il faut encore qu'il

arrive jusqu'aux cellules que l'on veut atteindre. S'il est vrai que les tumeurs greffées réagissent moins bien que les tumeurs spontanées, parce que les premières n'ont pas leur vascularisation normale, on ne peut tirer de ce fait des conséquences définitives quant à l'action de la colchicine sur les tumeurs;

7° Quand on aura trouvé un agent chimique assez toxique pour détruire les mitoses, mais pas trop pour agir gravement sur l'organisme, et quand on aura pu le porter intact au contact même de toutes les cellules néoplasiques, on aura fait un grand pas dans la chimiothérapie du cancer. On possède, pour le moment, des agents qui ont ces divers avantages: les radiations. D'où leur succès comme méthode thérapeutique. Avant de leur substituer ou de leur associer des agents chimiques, encore faut-il s'assurer que ces derniers auront les mêmes qualités.

CHAPITRE VI

TRAVAUX PERSONNELS

Nous avons pu constater plusieurs fois, au cours de l'exposé qui précède, combien hasardeuse est l'application prématurée d'une théorie biologique, avant que cette dernière soit indiscutablement démontrée. Appliquer aux tumeurs humaines, avec l'intention de les faire régresser, un toxique dont le mécanisme d'action sur la cellule n'a pas été complètement élucidé nous paraît une pratique dangereuse et d'ailleurs aléatoire. Sans doute, les divers travaux que nous avons précédemment analysés apportaient une série de conclusions de plus en plus probantes, mais nous ne voulions pas aller jusqu'à les étendre à la thérapeutique humaine, sans nous être assuré au préalable, par une expérimentation personnelle, que ces conclusions étaient fondées.

Nos recherches, commencées dès le début de 1939, et malheureusement interrompues par la guerre, nous avaient d'abord amené à des faits intéressants, mais dont les conclusions formelles n'avaient pas la netteté désirable. L'application de numérations statistiques et l'utilisation de tissus entiers, comme l'épiderme ou la

cornée d'un animal, à la place de coupes, nous ont donné la clef qui nous a permis d'utiliser notre matériel biologique, en lui faisant donner une réponse claire. Il nous restait alors à appliquer à l'étude du cancer les notions que l'expérimentation nous avait suggéré, et ceci a constitué la deuxième partie de notre travail, que nous avons pu mener à bien dans le service de notre Maître, le Professeur LAMARQUE, Directeur du Centre Anticancéreux.

L'action de la colchicine sur les tissus normaux, son efficacité sur le cancer, l'étude d'autres produits, comme le chloral, enfin la combinaison de la colchicine avec les rayons X constitueront l'essentiel de nos travaux personnels.

I, - Travaux sur le mode d'action

de la colchicine

Choix du matériel

Les animaux les plus favorables à nos recherches nous ont paru d'emblée être les Batraciens, Anoures ou Urodèles. La grande taille de leurs cellules, la facilité de leur étude cytologique, la lenteur de la mitose chez ces animaux à sang froid, enfin, considération non négligeable en ce moment, la simplicité de leur élevage et le grand nombre des individus que l'on peut employer, tout cela constitue d'appréciables avantages dans une étude de cytologie nucléaire. Nous adressant à des phénomènes de prolifération cellulaire, il était logique de choisir des larves plutôt que des adultes. Enfin, la coupe totale de l'animal ayant permis de nous renseigner sur l'état des différents organes, nous avons préféré ensuite

observer les mitoses sur des préparations de tissus entiers: épiderme mince du têtard ou cornée de l'adulte. La technique adoptée avait l'immense avantage d'éviter les erreurs d'appréciation, dues à des noyaux coupés tangentiellement. La netteté des figures cytologiques est d'un grand secours quand on veut étudier la fréquence respective des différentes phases de la mitose par la méthode statistique. Bien entendu, les résultats obtenus ont été toujours comparés avec des coupes des autres organes chez les mêmes animaux.

La colchicine cristallisée que nous avons employée nous a été fournie par la maison HOUDÉ, les solutions préparées pour injections ont été faites dans l'eau distillée ou l'huile d'olive. Lorsque nous avons simplement immergé les larves, la solution a été faite dans l'eau du robinet et les témoins ont été placés dans la même eau. Toutes les expériences ont été faites à la température du laboratoire.

Quand nous avons utilisé la méthode des coupes, le matériel a été fixé d'emblée soit par le liquide de Bouin-Hollande, soit par le liquide de Zenckern-formol, soit par le liquide chromo-acéto-picrique de Bataillon. Après inclusion à la paraffine, nous avons coupé à $5\ \mu$ et coloré avec l'hématoxyline de Regaud, les colorations cytoplasmiques étant obtenues par l'éosine, l'érythrosine, le vert Lumière suivant les cas, ce dernier ayant l'avantage de donner des images très claires. Pour éviter les causes d'erreurs dues à des laques ferriques après hématoxyline, nous avons toujours comparé les résultats obtenus soit avec des colorations à la safranine-alcool picrique, soit avec des hématoxylines fortement différenciées, suivant la technique classique de MASSON.

Cette dernière coloration nous a donné d'excellents résultats, surtout pour l'examen de coupes de tumeurs humaines, dont la structure générale apparaît ainsi plus nettement. Tantôt nous avons utilisé comme troisième colorant le bleu d'aniline, qui fait partie de la technique originelle, tantôt nous lui avons substitué le vert Lumière. Dans tous les cas, une longue et minutieuse regression de l'hématoxyline à l'alcool picrique nous a permis de faire ressortir les mitoses, en colorant très faiblement les noyaux quiescents, ce qui facilite la lecture des préparations. La technique de FEULGEN, trop discutée pour être considérée comme spécifique des nucléoprotéides cellulaires, n'a pas été utilisée.

Pour les préparations de tissus *in toto* (épiderme cornéen), la différenciation de l'hématoxyline nous a donné quelques difficultés: beaucoup moins homogène que dans les coupes, elle est plus délicate et demande des tâtonnements. Mais les images mitotiques obtenues sont si nettes que leur lecture rapide dans un grand nombre de cellules en est grandement facilitée.

Dans l'établissement de nos statistiques, nous avons observé les préparations avec l'objectif à immersion, en comptant chaque fois le nombre de champs examinés, le nombre de mitoses qu'on y trouve et en classant ces dernières suivant le stade précis où le fixateur les a surprises. La numération des champs microscopiques nous a donné une mesure, approximative sans doute, mais utile, de la surface du tissu.

Une analyse plus serrée de la terminologie employée pour ce travail est ici nécessaire.

Comment nous avons distingué les diverses phases de mitose

Il va de soi que dans un mécanisme aussi complexe que la caryocinèse, toute subdivision en phases successives est évidemment arbitraire. La nature ne décompose pas comme un mouvement de gymnastique les évolutions compliquées de la chromatine au moment de la division. Mais qu'importent les séparations artificiellement établies par les biologistes, si tous les chercheurs s'entendent sur des termes précis et si chacun utilise la même méthode pour les tissus intoxiqués et les tissus témoins. Il faut et il suffit que l'on compare entre eux des phénomènes de même nature.

C'est ce que nous allons essayer de faire en donnant notre propre nomenclature en ce qui concerne notre objet d'étude.

A) La *prophase* classique va des premiers remaniements des noyaux à la segmentation du spirème, qui précède la plaque équatoriale. Le déroulement de cette phase peut être subdivisé en stades plus courts :

a) Tout au début, la chromatine commence à prendre l'apparence d'un réseau fin et serré, où les nucléoles ont disparu, mais où rien encore ne rappelle l'aspect rubanné du spirème. C'est ce que nous appelons la *prophase 1* (fig. 1) ;

b) Le spirème commence à s'individualiser, mais il est encore mince et ses spires sont resserrées et anguleuses. C'est le *spirème serré*, que nous nommerons *prophase 2* (fig. 2). L'épaisseur du filament est nettement moindre qu'au stade suivant ;

c) Complètement formé, le peloton qui constitue le spirème est nettement délimité: il a son épaisseur définitive ou presque, mais, en faisant varier la mise au point, on peut suivre ses flexuosités lâches, car il ne s'est pas encore fragmenté en chromosomes. C'est le *spirème lâche* ou *prophase 3* (fig. 3);

d) Enfin, se plaçant immédiatement avant la métaphase, il existe un moment où les chromosomes déjà individualisés, mais disposés sans ordre dans toute l'aire nucléaire, n'ont pas encore pris leur disposition rayonnante autour du fuseau. Ce stade, très fugace dans la mitose normale, correspond à ce que nous avons appelé la *prémétaphase* ou *spirème fragmenté* (fig. 4).

B) *La métaphase* est un stade relativement court, si nous le réduisons à ce moment où les chromosomes, disposés en aster à l'équateur du fuseau, ne sont encore ni clivés, ni attirés vers les pôles. Cet état d'équilibre relatif, avant que l'action des centrosomes ne se soit faite sentir, est aussi le moment de perméabilité cellulaire maximum et le plus fragile des stades de la mitose. C'est pourquoi il n'est pas rare qu'il avorte ou dégénère, même dans les tissus normaux (fig. 5).

C) *L'anaphase*, ou *diaster*, pendant laquelle les chromosomes effectuent leur migration vers les centrosomes, peut encore être distingué en:

a) début d'anaphase: figures en tonneau, en barillet, (fig. 6);

b) fin d'anaphase (fig. 7), suivant que les deux groupes d'éléments chromatiques sont plus rapprochés de l'équateur ou des centres.

D) *La télophase* a été subdivisée en :

a) télophase proprement dite, qui commence avec l'apparition de la membrane intercellulaire (fig. 8 et 9) et qui se continue par l'éloignement de deux cellules filles;

b) fin de division, qui est en quelque sorte une double prophase à l'envers et qui se caractérise par l'alvéolisation des chromosomes, aboutissant à des noyaux fils de petite taille (fig. 10).

De ces neuf stades, que nous avons essayé de caractériser, il importe maintenant de comparer l'importance respective à l'état normal. On peut supposer *a priori* que le nombre de mitoses au début de la division (c'est-à-dire avant la métaphase) doit approximativement égaler le nombre des stades terminaux (après la métaphase). C'est bien ce que prouvent nos statistiques faites sur des tissus normaux : le nombre des prophases, considérées dans leur ensemble, est égal ou un peu supérieur à celui des cellules finissant la division.

Enfin, signalons que ces différents moments de la mitose se suivent sans interruption et sans interposition entre eux de stades nouveaux.

Expériences préliminaires

A) *Têtards de Bufo vulgaris* Laur.

Ces expériences ont d'abord été faites avec des têtards de huit semaines, placés dans des solutions de colchicine, obtenues en dissolvant un centigramme, cinq milligrammes et un milligramme de colchicine cristallisée dans de l'eau distillée. Des animaux ont été prélevés tous les jours pour examen histologique et l'ensem-

ble du matériel a été étudié pendant quinze jours. Nos travaux, commencé au moment où nous ignorions les recherches analogues faites par C.-M. LAUR, dans le Laboratoire du Professeur FIESSINGER, nous permettent quelques remarques.

a) *Effets macroscopiques:*

Ce qui frappe au premier abord, après 24 ou 48 heures d'action, c'est l'aspect gonflé et, en quelque sorte œdémateux, des animaux intoxiqués; l'épiderme, qui paraît d'ailleurs moins pigmenté, semble décollé des tissus sous-jacents et l'animal prend une forme un peu particulière, en « *boîte de violon* ». Cette constatation, facile à faire, a été corroborée par C.-M. LAUR.

b) *Effets microscopiques:*

Après 24 heures d'action, on trouve des mitoses de type colchicinique dans des organes où l'activité divisionnelle est suffisante, c'est-à-dire à peu près dans tous. Les figures où les chromosomes, séparés entre eux et déjà clivés, sont disposés en désordre dans toute l'aire nucléaire, sont extrêmement fréquentes, ce qui démontre l'impossibilité de la formation du fuseau. Déjà, à la 24^e heure, les images de dégénérescence pycnotique apparaissent et des boules sidérophiles occupent la place du noyau. Dans les jours qui suivent, ces dégénérescences augmentent de nombre et l'on voit des images qui rappellent étrangement ce que DUSTIN a décrit sous le nom d'excrétion sphérulaire.

Les tissus où l'on trouve ces altérations sont variés. Des cinèses colchiciniques s'observent dans l'intestin, le foie, la rate, le tissu conjonctif, le cartilage, les chevrons musculaires du dos et de la queue, l'épiderme, les

branchies, l'estomac. Mais les organes les plus riches en mitoses sont, par ordre d'importance: le système nerveux, où les divisions occupent la couche cellulaire qui borde l'épendyme, l'œil et le bec corné, où presque toutes les coupes montrent des cinèses bloquées. Dans l'œil, les régions les plus sensibles sont, chez l'animal jeune, la périphérie de l'ébauche, et, chez le têtard plus développé, la zone germinative, qui sépare l'iris de la partie optique de la rétine. Cette zone, ainsi que la couche périépendymaire du cerveau, ont été utilisées par SPEAR et GLUCKSMANN, pour analyser chez le têtard de Batracien l'action des rayons X sur la mitose.

Le bec corné, qu'il soit examiné en coupes ou en préparations totales, dans lesquelles on peut voir par étalement la couche cellulaire génératrice, est excessivement riche en mitoses colchiciniques. Nous verrons plus loin comment le type d'altérations qu'on y observe parfois (chromosomes séparés, clivés et épaissis, mais non dégénérés) peut différer chez le même animal de celui qu'on retrouve dans la cornée par exemple (chromosomes agglutinés). Il y a là une différence qualitative entre la réaction de deux organes différents, sur laquelle nous reviendrons.

Les dégénérescences pycnotiques après la mitose sont particulièrement évidentes dans le système nerveux: l'examen d'un animal laissé 5 à 6 jours dans une solution à 0 gr. 01 pour 1.000 est frappant à cet égard et montre d'innombrables masses pycnotiques, qui criblent non seulement la couche épendymaire, mais aussi le tissu nerveux qui l'entoure. On peut assez facilement suivre l'évolution des phénomènes nucléaires: les chromosomes séparés et clivés, prenant parfois une appa-

rence de tétrades chromatiques assez curieuses, s'épaississent et finissent par former des boules sidérophiles de taille inégale; tantôt ces boules dégénèrent pour leur propre compte et disparaissent, tantôt elles s'agglomèrent en une espèce de « morula nucléaire », pour former ensuite une seule masse pycnotique arrondie et homogène. Il est évident que ces altérations s'observent assez tard; elles peuvent d'ailleurs coexister dans le même tissu avec des mitoses normales ou simplement arrêtées. Les expériences ultérieures expliqueront plus nettement cette coexistence.

c) *Effets sur le développement:*

Nous n'avons jamais observé, ni chez des animaux jeunes, ni chez des animaux âgés, d'accélération de la croissance ou de la métamorphose. La taille des animaux intoxiqués est plutôt plus petite que celle des témoins, la métamorphose se fait avec quelque retard, ce qui n'a rien d'étonnant, étant donné les conditions très anormales que crée l'intoxication prolongée par la colchicine.

Bien qu'ayant employé dans nos expériences des doses relativement faibles, nous pouvons dire que celles-ci n'ont jamais provoqué chez nos animaux l'accélération du développement et la précipitation de la métamorphose, signalés par C.-M. LAUR. Nous avons cependant observé plus de cinq cents têtards de *Bufo*, et ce nombre nous paraît suffisant pour nous faire dire qu'il ne faut pas imputer à la colchicine une métamorphose plus précoce chez les animaux touchés par le toxique, car il peut y avoir des discordances assez grandes, suivant les individus.

Pour cette même raison, nos expériences, faites sur des œufs du *Bufo*, nous paraissent contredire nettement celles de LAUR sur les œufs de *Rana*. Jamais nous n'avons observé d'accélération du développement des larves; d'ailleurs, nos recherches ont porté sur un nombre d'individus trop faible pour que nous nous permettions de les publier encore, et nous espérons pouvoir les vérifier à nouveau avant d'en tirer une conclusion définitive.

B) *Larves d'Urodèles (Molge palmata Schneid.)*

Ces expériences avaient primitivement pour but d'observer si la colchicine est capable de provoquer des troubles du développement, quand on immerge des œufs de Triton au moment de la segmentation dans des solutions de colchicine à 0 gr. 01 pour 1.000. Chaque œuf, pondu isolément, était placé dans la solution toxique et l'on notait chaque jour l'état du développement en le comparant avec celui des témoins placés dans l'eau. Dès que les animaux mouraient, ils étaient fixés et examinés histologiquement. D'autres étaient fixés vivants à des dates déterminées. Cette technique, incapable de nous donner de belles images cytologiques, nous donnait cependant des indications suffisantes.

a) *Macroscopiquement*, les trente-quatre animaux étudiés n'ont montré aucune accélération du développement, leur éclosion s'est faite du 15^e au 20^e jour et les larves placées dans la colchicine ont pu continuer à vivre dans cette solution.

Cependant, il nous a été donné d'observer dans un cas le gonflement de l'animal qui a pris une apparence hydropique assez curieuse. Ce phénomène isolé s'est

retrouvé par la suite avec les embryons de *Bufo*, sous l'influence du chloral.

b) *Histologiquement*, la beauté des images colchicini-ques est très grande. Ce qui frappe, c'est le grand nombre de mitoses dans la partie dorsale de la tête; des recherches récentes ont montré que c'était une zone d'induction mitotique. C'est en effet là que se trouve le lieu de prolifération cellulaire maximum. La colchicine a donc joué son rôle de réactif d'une zone germinative.

Lorsque l'animal est resté longtemps sous le coup de l'intoxication, la même région montre une quantité énorme de pycnoses, avec tous les aspects déjà décrits, de l'arrêt cinétique à la formation de spérules chromatiques.

De ces expériences préliminaires déjà anciennes il résulte simplement que le poison agit chez ces larves de Batraciens dans tous les tissus où il y a un certain degré de prolifération, que cette action est très vive, si le développement de l'organe est rapide au moment considéré, enfin que la dégénérescence nucléaire donne naissance à des sphérules sidérophiles, très semblables à ce que DUSTIN a décrit, sous le nom d'excrétion sphérolaire, dans l'intestin grêle de la Souris.

Deux faits particulièrement nets doivent retenir notre attention: d'une part, la grande activité divisionnelle dans le tissu nerveux s'explique parce que ce dernier est en plein développement chez les larves, alors que celui-ci est arrêté chez l'adulte; d'autre part, malgré les faibles doses employées (surtout si on les compare à celles administrées par C.-M. LAUR), nous n'avons jamais observé une action de stimulation de la croissance, qui reste pour nous aujourd'hui une hypothèse

invérifiée. D'ailleurs, même si l'on admet intégralement la théorie de DUSTIN, il est difficile d'accepter l'idée d'une croissance activée, alors que toutes les divisions dégénèrent. Même aux doses très faibles, à effet très lent et discret, nous n'avons jamais observé qu'un seul et même résultat: l'inhibition mitotique.

Expériences principales sur le mode d'action de la colchicine

1° TÊTARDS DE *Bufo Vulgaris* Laur.

Toutes ces expériences sont basées exclusivement sur l'analyse statistique des phases de la division cellulaire dans la cornée du têtard de *Bufo vulgaris*. Ces petits animaux, qu'il est facile de se procurer en grand nombre au printemps, sont choisis au voisinage de la métamorphose, au moment où les pattes postérieures, déjà sorties, ont environ 1 à 1 mm. 1/2 de longueur, les pattes antérieures étant encore cachées sous le tégument. Ces animaux ont été immergés dans une solution de colchicine à 0 gr. 02 pour un litre d'eau. Chaque heure après l'immersion, trois d'entre eux ont été prélevés et plongés dans le fixateur. L'épiderme disséqué et décollé a été ensuite coloré à l'hématoxyline de Regaud et monté entre lame et lamelle. En raison de sa transparence, de la facilité qu'elle apporte aux numérations, nous avons utilisé la cornée, qui apparaît comme une surface circulaire plus claire et qui nous a permis d'avoir des numérations très exactes, où l'observation n'était ni faussée, ni gênée par la présence de pigment.

Les animaux, prélevés chaque heure, étaient au nombre de trois, ce qui porte à six le nombre de cornées examinées. Bien que les dimensions de ces derniè-

res soient à général à peu près équivalentes, nous avons noté chaque fois le nombre de champs microscopiques observés, afin d'avoir une représentation plus exacte de la surface étudiée. Cette mesure, pour approximative qu'elle soit, donne cependant une idée comparative assez juste de celles-ci.

Si nous jetons un coup d'œil sur le tableau ci contre, qui exprime dans leur ensemble les résultats numériques obtenus, nous pouvons en tirer les conclusions suivantes :

A) Observations quantitatives

a) Nombre total de mitoses :

Si nous considérons seulement la totalité des cellules en mitose à chaque moment, en les ramenant à un pourcentage correspondant aux champs microscopiques, nous constatons que le chiffre ne subit, dans les premières heures, aucune élévation, comme cela devrait se faire si l'action de la colchicine était d'abord de stimuler l'entrée en division. Le tableau ci-contre montre qu'il y a, au contraire, une légère diminution des cinèses dans les premières heures, c'est-à-dire de la 1^{re} à la 11^e heure environ, avec quelques aberrances individuelles, dues à ce qu'il est impossible que tous les animaux soient en même temps dans les mêmes conditions de nutrition.

C'est seulement à une heure tardive, c'est-à-dire à partir de la 24^e heure, que le nombre total de divisions dénombrées monte rapidement pour atteindre 145 % à la 48^e heure et 377 % au 3^e jour.

Nous verrons tout à l'heure à quoi est due cette élévation terminale de la courbe.

Tableau général de
sur des cornées

	Pro- phase I	Pro- phase II	Spi- rème lâche	Pré- meta- phase	Méta- phase	Début d'ana- phase	Fin d'ana- phase	Télo- phase	Fin de division	Nombre total de métoses	Nombre total de champs	Nombre de métoses par corne
1/2 heure après	11	12	17	18	29	0	11	7	20	125	391	21
totaux	40			18	29	38						
pourcentage	32 %			14.5 %	23.5 %	30 %				40 %		
1 heure après	29	26	28	40	56	10	38	34	35	296	398	12
—	83			40	56	117						
—	28.5 %			13.5 %	18.5 %	39.5 %				75 %		
2 ^e h.	26	36	23	46	70	12	24	15	38	290	411	48
—	85					89						
—	29.5 %			15.5 %	24.5 %	30.5 %				93 %		
3 ^e h.	17	25	6	12	26	3	13	7	18	127	331	21
—	48					41						
—	37.5 %			9.5 %	29.5 %	32.5 %				39 %		
4 ^e h.	3	8	6	12	27	3	10	9	14	92	307	15
—	17					36						
—	18.5 %			13 %	29.5 %	38 %				30 %		
5 ^e h.		10	8	7	22	2	6	10	10	75	292	125
—	18					28						
—	24 %			9 %	29 %	38 %				25.5 %		
6 ^e h.	8	10	6	11	7	4	5	6	4	61	262	43
—	24					19						
—	40 %			20 %	12 %	21 %				28 %		
7 ^e h.	13	11	8	14	37	13	20	16	18		279	37.5
—	32					67						
—	21 %			10 %	24.5 %	45 %				53.5 %		
9 ^e h.	5	8	4	7	17	1	9	6	12	69	192	17
—	17					28						
—	24.5 %			10 %	24.5 %	41 %				36 %		
11 ^e h.	4	4	3	12	8	1	6	3	5	46	212	11.5
—	11					15						
—	24 %			26 %	17 %	32.5 %				22 %		

13 ^e h.
pour
15 ^e h.
17 ^e h.
19 ^e h.
21 ^e h.
23 ^e h.
25 ^e h.
36 ^e h.
48 ^e h.
3 ^e jour

b) *Comparaison entre l'importance des stades initiaux et terminaux.*

Si l'on met en regard le nombre des cellules se trouvant dans la première partie de la division avec celui des cinèses à la fin de leur évolution, on constate, à la première heure, alors que l'action du toxique paraît pratiquement nulle, que pour 32 % de prophases (les 3 premiers stades de notre classification), il y a exactement 32 % de phases terminales, ce qui signifie que l'évolution de la mitose semble se faire régulièrement, les trois principales phases ayant dans ce cas à peu près la même longueur. Au contraire, quand la colchicine a commencé à agir, c'est-à-dire à partir de la 11^e heure environ, on constate que le nombre de prophases diminue en valeur absolue et aussi en valeur relative, car il restera toujours par la suite *inférieur* à celui des phases terminales. Une seule exception à cela : lorsque l'action toxique aura abouti à un blocage à peu près complet de *toutes* les cellules avant la métaphase, les ana et les télophases deviennent impossibles et le nombre de prophases leur est tout de même un peu supérieur. Remarquons toutefois qu'elles atteignent alors des chiffres très bas (15 % à la 36^e heure, 10 % à la 48^e heure et 2,5 % le 3^e jour).

Que veut dire cette observation ? Si, comme le veut DUSTIN, la colchicine provoquait dans un premier stade l'excitation de la division, on devrait avoir à ce moment beaucoup de cellules en prophase. Or, il y en a moins que jamais. C'est donc que la phase excitomitotique primitive est une hypothèse à rejeter.

On nous objectera peut-être que l'abaissement du nombre des prophases en valeur relative n'a plus une

grande valeur au moment de l'accumulation des cellules bloquées, à la 48^e heure ou au troisième jour. Pour répondre à cette objection, nous avons rapporté le nombre des prophases non pas au chiffre total des divisions, mais à la surface étudiée, représentée par le nombre de champs, et nous avons pu conclure que ce nombre relativement fixe s'abaissait chaque fois que l'action morphologique de la colchicine se fait sentir (15^e heure et 19^e heure, par exemple) et qu'elle s'abaissait surtout à la fin de l'action (10 % à la 48^e heure et 8 % au 3^e jour). Notons que ces pourcentages sont plus élevés que ceux obtenus précédemment, mais ils concordent pour nous faire penser que la colchicine agit en réduisant le nombre des prophases, sans jamais l'arrêter, ce qui empêcherait toute accumulation de mitoses dans un tissu.

c) Nombre de prémétaphases (stade de spirème 3 de BUREAU et VILTER):

Le chiffre moyen de ces stades, dans notre matériel, au début de l'action et chez les témoins, se trouve être environ de 12 à 13 % jusqu'à la 11^e heure. Ce chiffre est un peu plus élevé dans notre matériel que celui qui a été constaté par d'autres auteurs, chez l'*Axolotl* par exemple. Mais la mitose n'est pas toujours exactement comparable dans les diverses espèces animales, et il peut y avoir de légères différences de cet ordre.

Quoiqu'il en soit, le chiffre des prémétaphases commence à peine à s'élever un peu de la 11^e à la 36^e heure et il dépasse le chiffre de la métaphase à partir de la 48^e heure.

Il y a dans ces numérations des anomalies qu'il faut expliquer: en effet, chaque fois qu'apparaissent des alté-

rations morphologiques, qualifiées par divers auteurs de mitoses colchicinales, on voit que le nombre des stades correspondant à la prémétaphase s'élève aussi, par exemple, à la 19^e heure, à la 25^e heure, et évidemment à partir de la 48^e heure. En revanche, à la 21^e, à la 23^e et à la 36^e heure, ces modifications ne s'observent pas. Mais si l'on compare le nombre total des phases intermédiaires (prémétaphase et métaphase) aux stades précédents et suivants, on est bien obligé de conclure qu'il est particulièrement élevé, les prophases et les phases terminales diminuant d'importance. Même si les altérations colchicinales typiques ne se sont pas montrées, il y a donc un ralentissement et un allongement de la partie moyenne de la mitose.

Plus tard, quand l'action de la colchicine sera typique et évidente, la prédominance du stade à chromosomes séparés, sans fuseau ni plaque équatoriale, sera très nettement apparente, en même temps qu'apparaîtront les manifestations dégénératives.

d) *Nombre de métaphases:*

Le pourcentage des plaques équatoriales reste à peu près constant, jusqu'au moment où les cellules ne peuvent plus du tout entrer en métaphase, c'est-à-dire à la 48^e heure. A ce moment, leur chiffre passe brusquement de 33 % à 1 %, pour tomber à zéro le 3^e jour.

e) *Nombre de phases terminales:*

Il en est exactement de même du nombre de cellules aux stades terminaux, qui tombe à 2 % au 2^e jour et à zéro au 3^e.

f) *Précisions sur les prophases:*

La subdivision de la prophase en trois stades a aussi une autre utilité: le pourcentage de chacun d'eux est à peu près équivalent au début de l'action; plus tard, il ira en diminuant fortement du 1^{er} au 3^e stade, le taux des spirèmes lâches étant réduit à zéro au 3^e jour. Cette constatation s'explique sans doute parce que toutes les cellules qui se trouveraient normalement à ce stade sont altérées et prennent rapidement le type dégénératif.

Pour nous résumer, ramenons à quelques notions primordiales les données statistiques analysées:

1° Les prophases n'augmentent jamais et diminuent au contraire régulièrement, surtout à la fin de l'action toxique;

2° Les prémétaphases augmentent en nombre, surtout à ce moment;

3° Les métaphases restent en nombre constant, pour disparaître à la fin;

4° Les phases terminales disparaissent absolument après trois jours d'immersion dans la solution de colchicine.

Trois remarques importantes s'imposent maintenant:

a) D'abord, le caractère lent et tardif de l'action toxique, caractère qui nous a frappé d'emblée et nous a d'ailleurs gêné dans nos expériences, car nous escomptions un début d'action plus précoce et nous n'avions pas prévu primitivement que l'analyse de l'effet toxique devrait porter sur un moment aussi tardif.

La lenteur de la mitose chez les Batraciens, ainsi que le procédé d'immersion dans l'alcaloïde sont responsables d'une aussi grande lenteur, car il faut bien que le toxique ait le temps d'arriver jusqu'au contact des cellules en division;

b) La deuxième remarque a trait aux irrégularités d'action de la solution employée suivant l'animal considéré, la région du tégument examinée et même suivant le côté, droit ou gauche, du corps. Nous avons déjà signalé — et C.-M. LAUR a fait la même observation — que certains têtards semblaient réagir vivement à l'alcaloïde (tel l'animal n° 3 à la 19^e heure), alors que leurs congénères, placés dans la même solution pendant le même temps, ne montrent que des signes très discrets d'intoxication. Notons qu'il s'agit de différences qualitatives aussi bien que quantitatives et que les aspects des mitoses intoxiquées apparaissent chez les premiers et non chez les seconds. Nous avons pu voir, par des expériences que nous publierons ultérieurement, que des animaux, prélevés à 1.000 m. d'altitude et placés dans une solution de colchicine, n'avaient pas du tout la même sensibilité que les animaux de la plaine méditerranéenne. Ce qui est intéressant, c'est la concordance parfaite des divers résultats statistiques pour chaque animal: quand la colchicine agit, son efficacité se manifeste par l'accumulation mitotique, l'élévation du nombre des prémétaphases, la disparition des phases terminales, aussi bien que par les aspects cytologiques que nous analyserons plus loin; quand l'action a été faible, ces divers effets sont *tous atténués de la même façon*. Cette convergence est une des preuves les plus solides que notre analyse expérimentale était basée sur des principes indubitables.

Dans un des animaux étudiés (19^e heure), nous avons été surpris de voir que la cornée d'un côté semblait manifester une réaction beaucoup plus vive que celle du côté opposé. Nous rapportons fidèlement les statistiques comparatives obtenues avec ces deux cornées.

Cornée d'un côté:

Prophases.	27	%	Nombre de mitoses pour 100 champs: 21,5
Prémétaphases. . .	20	%	
Métaphases.	20	%	
Stades terminaux .	33	%	

Cornée du côté opposé:

Prophases.	9	%	Nombre de mitoses pour 100 champs: 420,6
Prémétaphases. . .	84	%	
Métaphases.	5,5	%	
Stades terminaux .	1,5	%	

Ces chiffres sont suffisamment éloquentes et indiquent clairement que la colchicine a agi énergiquement d'un côté, presque pas ou pas du tout du côté opposé. Mieux encore l'aspect des prémétaphases dans la deuxième cornée est nettement anormal: il s'agit de figures indiscutablement colchiciniques, dont beaucoup sont déjà en dégénérescence. Nous avons demandé à un autre observateur de bien vouloir refaire cette numération: ses résultats étaient concordants. Expliquer ce fait en apparence paradoxal, nous semble d'abord difficile, mais une observation plus attentive nous a montré que la cornée intoxiquée était plus petite et morphologiquement différente de celle du côté opposé. peut-être une lésion locale ou une blessure accidentelle avait-elle troublé le développement de ce tissu et permis

à la colchicine de pénétrer à la faveur d'une plaie minuscule à l'intérieur des tissus considérés.

Cette petite expérience spontanée montre en tout cas que les irrégularités d'action de l'alcaloïde ne sont peut-être pas imputables à des différences de sensibilité entre deux organes cytologiquement identiques, mais à des différences de pénétration.

Signalons enfin les mêmes irrégularités d'action, suivant qu'on examine la cornée, le tégument dans son ensemble ou les lèvres. Nous avons observé plusieurs fois que les mitoses colchiciniques, en prémétaphase dans la lèvre, avaient déjà l'aspect aggloméré dans la cornée et pycnotique dans la peau. Nous ignorons l'explication exacte de ces curieuses dissociations.

c) Une troisième et dernière remarque concerne l'élévation progressive du nombre des prémétaphases, qui aboutit au ralentissement des mitoses à ce point de leur évolution et à leur dégénération, faute de pouvoir achever leur cycle. Nous n'avons guère observé chez le têtard de *Bufo* les tentatives d'anaphase anormale sans fuseau, que nous retrouverons chez le Triton. En tout cas, l'accumulation mitotique, qui a été prise par DUSTIN pour un phénomène précoce et primitif, apparaît après nos expériences comme tardif et secondaire, parce que la mitose des Batraciens, plus lente que celle des Mammifères, se prête mieux à l'analyse du début d'action de la colchicine.

B) *Observations morphologiques*

Que deviennent les différents stades de la division au cours de ces nombreuses modifications quantitatives?

a) La prophase est intacte: aucun trouble de la formation du spirème n'a été décelé;

b) Celui-ci, une fois formé et ayant atteint son calibre définitif subit la fragmentation en chromosomes, sans anomalie particulière;

c) A partir de ce moment, les chromosomes séparés tendent à se placer en plaque équatoriale, rayonnant autour de l'emplacement du fuseau (monoaster); il arrive que ce dernier soit moins net qu'à l'état normal et que les chromosomes viennent errer au centre de la plaque équatoriale, qui semble alors moins régulière. C'est une altération très discrète. A un degré plus avancé, la cellule est dans l'impossibilité de former cette plaque équatoriale et alors les chromosomes se disposent en désordre dans la région qui correspondrait au fuseau; ils sont bien séparés, un peu épaissis, mais n'ont aucune tendance à se diriger vers les pôles;

d) Le clivage longitudinal, qui aboutit à la formation de paires chromosomiques accolées, n'est pas arrêté malgré l'absence du fuseau. Seulement l'écartement des chromosomes appariés et leur éloignement vers les centres ne peut plus se faire, d'où l'aspect d'éléments non ordonnés, placés n'importe comment dans la région centrale de la cellule et très nettement clivés. C'est le *premier type caractéristique de la mitose colchicinique*;

e) Les altérations des chromosomes commencent par leur épaississement; ils deviennent ensuite moniliformes, perdent leur individualité, en même temps qu'apparaît autour d'eux un halo clair, représentant peut-être la substance fusoriale devenue amorphe. Certains d'entre eux sont aberrants et se trouvent isolés dans le cytoplasme;

f) Plus tard, les masses chromatiques s'agglomèrent, tout en restant fortement sidérophiles; c'est alors la *mitose colchicinique deuxième type*, celle que DUSTIN a décrite bien des fois, avec son halo clair, sa turgescence, et souvent, comme nous l'avons observé, la reconstitution autour du bloc nucléaire en voie de pycnose d'une sorte de condensation circulaire, semblable à une nouvelle membrane nucléaire, qui est probablement un aspect de dégénérescence.

g) Après un temps d'action encore plus long, on ne rencontre plus au milieu des noyaux quiescents que des pycnoses, soit en une seule boule homogène, soit en plusieurs boulettes fortement chromophiles, car ces noyaux dégénèrent ensuite pour être la proie des leucocytes;

h) Nous n'avons pu observer chez les têtards de *Bufo* ces images de pseudo-anaphase, où la séparation en deux groupes chromatiques fils tend à se faire sans l'intervention du fuseau.

2° *Larves très jeunes de Bufo vulgaris* Laur

Avant même de commencer les expériences que nous venons de rapporter, nous avons cru pouvoir nous servir d'un matériel un peu différent: il s'agit aussi de larves de *Bufo vulgaris*, mais prises tout à fait au début de leur développement, c'est-à-dire au 4^e ou 5^e jour. Ces larves ont dû être étudiées par la méthode des coupes, l'épiderme trop fragile et trop mince ne pouvant être dissocié. Nous espérions éliminer, en nous servant d'individus aussi jeunes, le facteur alimentaire, si important chez les animaux plus âgés, car nous pensions que l'activité mitotique était soumise à une impulsion interne assez forte pour qu'elle soit indépendante des changements de nutrition.

En réalité, l'action de la colchicine s'est montrée beaucoup plus faible et surtout beaucoup plus lente que nous ne l'aurions pensé. C'est ainsi, par exemple, que les larves placées dans une solution à 0 gr. 01 par litre, concentration très active pour des animaux avant la métamorphose, donne, à la 72^e heure d'action, un pourcentage qui s'exprime ainsi:

Prophases.	11	%
Prémétaphases.	54,5	%
Métaphases.	24,5	%
Stades terminaux	10	%

Il est vrai qu'à la 10^e heure on a le pourcentage suivant:

Prophases.	16	%
Prémétaphases.	23	%
Métaphases.	16	%
Stades terminaux	25	%

ce qui montre déjà une élévation nette du chiffre des prémétaphases.

Quelle conclusion tirer de cette variante apportée à nos expériences? Que l'action de l'alkaloïde se montre excessivement ménagée et progressive dans le cas d'animaux jeunes. Or l'examen des coupes montre qu'ils ont encore des tissus bourrés d'enclaves vitellines. On peut donc supposer que la colchicine, dont la solubilité dans les lipides est bien connue, s'est fixée sur le vitellus et que sa diffusion dans les tissus en a été gênée. Cette hypothèse est à vérifier.

3° Action sur les tissus d'autres Batraciens Anoures

Nous avons essayé également d'observer l'action sur la cornée de la Rainette (*Hyla arborea* L.) et du Crapaud (*Bufo vulgaris* Laur) adultes. Elle est exactement sem-

blable à celle obtenue chez des têtards des mêmes animaux, mais on remarque que dès la 12^e heure apparaissent des images pycnotiques, indiquant un moment d'action beaucoup plus avancé, ce qui est dû à la voie sous-cutanée utilisée comme mode d'introduction.

4° *Action sur les Tritons alpestris*
(*Molge alpestris* Laur)

Des Tritons alpestris, pêchés dans un lac de montagne, à 2.090 m. d'altitude, portés ensuite à 1.000 m., ont été injectés, par voie intrapéritonéale, avec deux dixièmes de centimètre cube d'une solution de colchicine à 1 pour 4.000. Chaque injection était faite simultanément à trois animaux, tantôt une femelle et deux mâles, tantôt l'inverse. L'étude de ce matériel, que nous avons pu nous procurer en août 1941, est encore en cours. Nous n'avons pas terminé l'examen histologique de tous les organes, à chaque moment de l'action toxique (l'expérience étant échelonnée sur une soixantaine d'heures).

A) *Cornée:*

Les cornées prélevées *in toto* et colorées à l'hématoxyline de REGAUD ont donné les statistiques suivantes:

A la septième heure:

Prophases.	25 %
Prémétaphases.	17 %
Métaphases.	8 %
Stades terminaux	50 %

A la vingt-quatrième heure:

Prophases.	22 %
Prémétaphases.	43 %
Métaphases.	5 %
Télophases.	30 %

Les expériences faites sur les Têtards de *Bufo* se trouvent donc confirmées, avec plus de netteté encore, car nous avons employé une technique moins sujette à l'erreur (injections) et parce que l'action a été plus rapide. Il ressort de ces deux numérations que les prophases sont relativement peu touchées, bien que légèrement diminuées par la colcichine, que le nombre des prémétaphases s'élève progressivement, empiétant sur celui des métaphases, qu'il réduit d'autant, et qu'enfin les stades terminaux dépassent toujours le chiffre des prophases, tout en diminuant en valeur relative, dans la mesure où le blocage de la division leur enlève des éléments.

De plus, la grande taille du noyau facilité l'observation à l'immersion, élimine les causes d'erreurs et permet enfin d'analyser de plus près les aspects morphologiques de la cellule intoxiquée. Parmi ces effets, il en est un sur lequel nous voudrions insister, c'est ce que nous avons appelé la prémétaphase : quand les chromosomes se sont individualisés, après le stade du spirème lâche, il arrive que l'on observe dans les tissus normaux, un moment où ces derniers vont se disposer en plaque équatoriale, aplatie suivant un plan perpendiculaire au fuseau, mais où celle-ci n'est pas encore formée. A cet instant commence l'action de la colchicine : nous avons vu que, sous son influence, le fuseau n'apparaissait pas, mais que le clivage longitudinal se faisait tout de même.

1° L'image colchicinique la plus précoce est représentée par des chromosomes épais, en partie clivés, mais non disposés en couronne rayonnante. Certains ont

commencé leur clivage par la pointe du V alors que les branches sont encore au contact (fig. 11);

2° Le clivage peut s'accroître, les paires chromosomiques restant toutes plus ou moins rapprochées et parallèles les unes aux autres. A des degrés différents, on retrouvera ce stade dans les figures 12 et 13. Les chromosomes paraissent alors beaucoup plus grêles, parce qu'ils sont séparés en deux;

3° Toujours après le clivage, les chromosomes dédoublés peuvent rester dans la même zone centrale de la cellule, sans ordre bien défini, et sans que les paires chromosomiques restent parallèles (fig. 14);

4° Si la tendance à la formation de la plaque équatoriale l'emporte, on peut trouver un aspect de chromosomes rayonnants dont certains sont un peu aberrants et parmi lesquels d'autres occupent l'emplacement du fuseau (fig. 15);

5° Enfin, l'attraction polaire peut l'emporter et l'on voit alors apparaître une certaine tendance à la formation de l'anaphase, sans qu'on puisse découvrir le fuseau; il y a des chromosomes aberrants plus ou moins en retard ou en dehors des groupes principaux (fig. 16).

Une autre série d'images cytologiques est donnée par les dégénérescences de la mitose bloquée.

a) Certaines sont caractéristiques (planche 2, fig. 20, 21, 22, 23 et 24). On y retrouve toute la gamme d'altérations, depuis la prémétaphase avec clivage jusqu'à la pycnose. Les figures que nous donnons sont empruntées à des préparations de cornées de têtards, qui, d'ailleurs, offrent les mêmes aspects que d'autres animaux. D'abord, les chromosomes deviennent épais, monilifor-

mes et s'entourent d'un halo clair fortement marqué. Puis ils s'agglutinent, sans perdre leur individualité. Parfois, l'un d'entre eux, un peu aberrant, s'éloigne du groupe chromosomique principal. A la fin, l'agglomérat de fragments chromatiques se condense pour former ce que nous appelons une « morula nucléaire », image que l'on trouve en grand nombre à la fin de l'action toxique, vers le 3^e ou 4^e jour, dans les tissus riches en mitoses. Enfin, signalons que certaines de ces masses pré-pycnotiques s'entourent d'une condensation plus ou moins nette qui paraît correspondre à première vue à une reconstitution de la membrane nucléaire (fig. 24). Cet aspect s'observe également dans les tissus néoplasiques. Des auteurs ont décrit la formation de micro-noyaux, de noyaux polylobés, considérés comme formés aux dépens des chromosomes aberrants. Nous ne pouvons affirmer avoir vu quelque part des images analogues : les cellules à noyaux polylobés que nous avons observées étaient des leucocytes et non des cellules épithéliales.

b) D'autres images sont moins caractéristiques. ALBERTI et POLITZER les ont retrouvées sous l'influence des rayons X. L'anaphase à chromosomes épaissis (fig. 17), la télophase à tendance pycnotique (fig. 18), et surtout l'anaphase à chromosomes aberrants (fig. 19), sont des aspects beaucoup moins fréquents ; nous les avons retrouvés nous-même sur la cornée du têtard irradié. Les figures que nous donnons sont extraites de cornées de Tritons après colchicine. Cela montre que les aspects dégénératifs de la mitose sont en nombre limité, qu'ils apparaissent dans toutes sortes de conditions anormales et que c'est une erreur de vouloir

faire de ces altérations banales une image caractéristique d'une intoxication spécifique.

B) *Autres organes:*

Nous avons étudié le foie et les organes génitaux de nos Tritons intoxiqués par la colchicine.

Dans le foie, on observe des mitoses uniquement dans la couche corticale de l'organe, qui a chez ces animaux la valeur d'un tissu hématopoïétique. Ces mitoses sont en nombre assez limité et prennent les aspects que nous avons décrits plus haut, c'est-à-dire que les prémétaphases y dominent.

Le testicule réagit différemment. Nous avons pris des animaux dont les organes mâles étaient littéralement bourrés de spermatogonies, avec une très petite quantité de cystes à spermatozoïdes. Après 21 heures d'action, par exemple, nous avons vu que la colchicine agit sur ces cellules, dont les chromosomes allongés, minces et d'aspect plumeux, sont généralement aux stades leptotène ou pachytène, en provoquant un épaississement de ceux-ci et finalement une sorte de pynose, un peu différente de celle que provoque la colchicine dans la cornée, par exemple. Cet aspect n'existait pas chez les témoins et croissait en intensité avec l'action toxique. L'intérêt de cette expérience était de savoir si l'état particulier de la chromatine, en dehors d'une mitose proprement dite, était capable de rendre ces cellules sensibles à la colchicine. Il nous semble qu'on peut répondre affirmativement à cette question.

On trouve enfin des mitoses colchiciniques dans le rein, les canaux de Wolff du mâle et dans l'intestin. Pour l'ovaire, qui ne présente pas normalement de mito-

ses à ce stade de la vie sexuelle, nous avons seulement noté une irrégularité plus grande des contours du noyau, avec des nucléoles plus ou moins dispersés en son centre.

II. -- Travaux sur le mode d'action du chloral

Nous avons été frappé par l'examen de préparations d'animaux intoxiqués par l'hydrate de chloral, dont nous avons étudié le tégument ou les cornées.

Macroscopiquement, ce narcotique agit sur les jeunes larves de *Bufo* en provoquant un gonflement du corps, analogue à ce que nous avons déjà observé chez des têtards plus âgés, sous l'influence de la colchicine. Après immersion dans une solution de chloral à 1 pour 1.000, l'épiderme était transparent et comme décollé des organes sous-jacents, l'ensemble de l'animal prenant un aspect sacciforme. Si on laissait pendant un certain temps les animaux dans la solution, tous ne mourraient pas, mais quelques-uns présentaient dans la région postérieure une petite boulette blanchâtre de vitellus, s'éliminant pas l'orifice anal. Cette observation, assez souvent répétée, peut correspondre à un signe non spécifique d'intoxication.

L'aspect histologique du tégument de ces animaux est plus intéressant. Si nous l'examinons 14 heures après l'immersion dans une solution aqueuse de chloral et si nous appliquons la méthode de la numération des phases, voici ce que nous observons :

- a) Les prophases ont complètement disparu ;
- b) La prémétaphase est cependant représentée par 8 % des mitoses, soit un chiffre à peu près normal ;

c) Les métaphases, en revanche, sont excessivement nombreuses : elles représentent, à la 14^e heure, 83 % des divisions. Elles se présentent en général sous la forme de plaques équatoriales un peu atypiques, dont le caractère principal, qui saute aux yeux d'abord, est leur disposition parallèle à la surface du tissu. Cette orientation est très différente de celle qu'on trouve d'ordinaire dans un épiderme d'animal normal : dans ce cas, l'immense majorité des plaques équatoriales est perpendiculaire à l'axe de vision, le fuseau étant vu de côté. Ici, la disposition des mitoses tendrait à la production d'un épaississement du tégument et non pas à son extension en surface. Certaines des métaphases subissent un début de dégénérescence. Les chromosomes tendent à s'agglutiner, comme dans la mitose colchicinique ;

d) Les stades terminaux, enfin, représentent 9 % des mitoses restantes, ce qui est un nombre peu élevé. Les anaphases se disposent, elles aussi, de la même façon, c'est-à-dire perpendiculairement à la surface du tissu : on voit, en modifiant la mise au point, deux rosettes superposées de chromosomes, correspondant aux deux groupes fils. Quelques anaphases sont obliques.

Choisissons maintenant une larve de cinq jours, placée dans la même solution, pendant dix heures, et faisons une numération après avoir coupé l'animal en série : nous obtenons un chiffre exactement concordant, c'est-à-dire :

Prophases.	0 -
Prémétaphases	29 %
Métaphases.	70 %
Stades terminaux	1 %

Ici encore, le blocage s'est fait au moment de la métaphase, et il semble que seules les cellules qui avaient commencé leur division sont ainsi arrêtées. Celles qui se trouvaient en puissance de mitose n'ont même pas pu entrer en prophase.

Si nous reprenons maintenant les travaux de VAN REGEMORTER, concernant l'action de l'hydrate de chloral sur la cellule végétale, nous y lisons que ce corps agit d'abord en déplaçant l'axe des mitoses, qui deviennent perpendiculaires ou obliques par rapport à l'axe normal, d'où une tuméfaction de la zone de prolifération des racines. Nos expériences montrent que ces faits peuvent être transposés directement en Biologie animale.

Enfin, GARRIGUES insiste sur la plus grande toxicité de ce produit et il en fait, nous l'avons vu, un poison de structure, par opposition à la colchicine, poison du fonctionnement. L'inhibition de tout début de prophase par ce narcotique est une observation facile à faire, qui semble confirmer la manière de voir de cet auteur.

III. -- Action combinée des rayons X et de la colchicine

Nous avons commencé une série d'expériences pour essayer de déceler l'action que peuvent avoir les rayons X sur la division bloquée par la colchicine. Il paraît évident que si l'action de ce toxique consiste à prolonger les phases de perméabilité cellulaire maximum, c'est-à-dire la prémétaphase et la métaphase, les rayons doivent agir plus longtemps et mieux, puisqu'ils trouvent dans le tissu qu'on leur expose un beaucoup

plus grand nombre de cellules à chromatine condensée. La colchicine doit donc *a priori* augmenter la radio-sensibilité d'un tissu et c'est dans ce sens que GUYER et CLAUS ont essayé d'appliquer les rayons X à des cellules néoplasiques préalablement colchicinisées.

Prenant le problème par un autre bout, nous avons voulu voir ce que devenaient les mitoses colchiciniques apparues en grand nombre dans un tissu, après action des rayons X, et si elles subissaient de ce fait quelques modifications. Des têtards de *Bufo*, placés pendant 24 heures dans une solution de colchicine à 0 gr. 01 pour 1.000, ont été ensuite irradiés et ont reçu la dose de 300 r. A partir de la fin de l'irradiation, on en a prélevé trois, chaque heure, pour examen histologique. Voici les constatations que nous avons pu faire, en les comparant avec l'action de la même dose des rayons, faite dans les mêmes conditions sur des animaux non intoxiqués.

Trois heures après l'irradiation, c'est-à-dire 27 heures après l'action de la colchicine, les prophases arrivent au pourcentage de 6 %, tandis que les cellules colchiciniques en dégénération représentant 95 %, les métaphases 2 % et les stades terminaux 2 %. Il semble que les dégénérescences dues à la colchicine ont été beaucoup plus rapides dans les tissus irradiés que dans les tissus normaux, bien que la dose de cette dernière ait été moindre (0 gr. 01 pour 1.000 au lieu de 0 gr. 02).

La formule obtenue à la 27^e heure, dans le premier cas, correspond à celle qu'on trouve à la 48^e heure dans le second. Tandis que les prophases atteignent encore 10 % à la 48^e heure, après colchicine seule, elles baissent à 6 % (27^e heure), 4 % (29^e heure) et 1 % (31^e heure), si l'on à 6 % (27^e heure), 4 % (29^e heure) et 1 % (31^e heure), si l'on fait intervenir les radiations.

Celles-ci agissent donc sur les cellules colchicinisées de deux façons :

a) En superposant leur activité propre, qui arrête la prophase ;

b) En accélérant et en aggravant le mécanisme de dégénération des mitoses colchiciniques.

L'irradiation pratiquée directement sur des tissus non colchicinisés témoigne clairement de l'exactitude de notre conception. A la troisième heure d'irradiation, on observe un *arrêt complet* des divisions cellulaires, par inhibition de l'entrée en prophase : sur six cornées étudiées, on ne trouve plus à ce moment qu'une métaphase d'aspect anormal, vésiculeuse et tendant à dégénérer, et une anaphase avec chromosomes aberrants, en retard sur le fuseau. Cette diminution énorme des divisions, qui s'accroîtra par la suite, montre bien quelle est l'action des rayons X sur la mitose normale.

IV. -- Action de la colchicine sur le cancer humain

Quand nous disions, à la fin du chapitre V, que le problème de l'action sur les mitoses néoplasiques, pour un agent chimique comme la colchicine, est avant tout un problème de pénétration et de toxicité, nous posions les bases sur lesquelles viendront s'appuyer nos expériences. Il faut d'abord connaître parfaitement le problème à résoudre, pour ne pas attendre de la colchicine plus qu'elle ne peut donner.

Le cancer se ramène-t-il à un problème de prolifération cellulaire ? Certainement, mais pas exclusivement. La multiplication désordonnée des cellules est le propre

de toute tumeur, même bénigne; ce qui caractérise les malignes, c'est aussi la possibilité qu'a la cellule néoplasique de vivre dans des conditions impropres à la nutrition de la cellule normale différenciée, par exemple dans le sang. La cellule cancéreuse est donc caractérisée avant tout par sa propriété d'émigrer dans les tissus voisins (envahissement de proche en proche) ou par les vaisseaux dans les organes lointains (métastase). Si donc on arrête la prolifération d'une tumeur maligne là où elle se développe, aura-t-on arrêté le processus néoplasique? Non, s'il reste la possibilité pour celui-ci de reprendre ailleurs son développement. Mais si nous arrêtons la croissance de ce tissu cancéreux au point où il est né, nous pouvons espérer laisser aux facteurs de destruction la chance de l'emporter sur les facteurs d'hyperplasie. L'espoir d'agir directement sur la cellule cancéreuse par des toxiques qui l'empêchent de se diviser est donc parfaitement fondé. Par ailleurs, ils peuvent constituer un adjuvant utile des traitements physiques, pour les raisons que nous venons d'exposer plus haut.

Pour nos essais de thérapeutique humaine, nous ne pouvions en conscience faire courir aux malades le risque d'un traitement dont l'effet n'est pas encore connu. Nous pouvions toutefois, pendant le bref délai qui précédait l'application des traitements physiques, essayer de voir si l'action de la colchicine est identique dans les tissus normaux et les tissus néoplasiques.

1. — PROCÉDÉS EMPLOYÉS

Nous avons vu que la colchicine est beaucoup trop toxique pour qu'on puisse l'utiliser en injection intraveineuse, à dose assez forte, pour obtenir l'effet de blo-

cage divisionnel. Il fallait donc la porter au contact des tissus néoplasiques en l'incorporant à un vecteur qui la laisse diffuser lentement. Etudiant des cancers cutanés d'exploration et d'examen faciles, il était indiqué de se servir d'abord d'une pommade. Cette pommade contenait 1 gr. pour 100 de colchicine dans un mélange de lanoline-vaseline; elle avait été préparée par la Maison HOUDÉ.

Il nous a paru bien vite que ce mode d'introduction était assez peu applicable aux tumeurs volumineuses, aux tumeurs sous-cutanées non ulcérées, enfin à certains cancers cutanés, suppurés ou donnant naissance à un suintement abondant, qui empêche toute application correcte de pommade. Pour ces raisons, nous avons essayé de dissoudre la colchicine dans de l'huile lavée, mais, sa solubilité étant très faible, nous avons tourné la difficulté en fabriquant une solution de colchicine dans laquelle cette dernière, dissoute à chaud pendant la stérilisation à l'autoclave, formait une suspension huileuse en se refroidissant. Nous pouvions ainsi fabriquer des ampoules contenant 0 gr. 005 dans un cm^3 d'huile, dont nous injections le contenu en surveillant attentivement l'apparition des signes d'intoxication. A notre grande surprise, ceux-ci ont apparu très tard, du 2^e au 4^e jour, et ils se montraient discrets. Pourtant, le Codex indique comme dose maximum celle de 0 gr. 004 pour 24 heures. Nous avons osé faire alors deux, puis trois, puis quatre injections locales au même malade, le même jour. Avec des variations dues aux susceptibilités individuelles, nous avons pu constater le caractère fruste, inconstant, et souvent tardif de signes d'intoxication très atténuée. Une légère diarrhée en était la seule manifestation.

Nous avons donc la réponse à la question que nous nous posions: *On peut, sans danger pour le malade et avec de grandes chances d'éviter les accidents toxiques d'intensité moyenne, injecter in situ la colchicine en solution huileuse, afin d'agir sur les cellules néoplasiques et d'arrêter leur développement.*

Il s'agit maintenant de savoir si elle est aussi efficace sur les cellules néoplasiques que sur les cellules normales.

MALADES TRAITÉS PAR APPLICATION DE POMMADE COLCHICINÉE

1. — A. M..., 60 ans. Epithélioma spino-cellulaire développé depuis un an environ sur des loupes de la région frontale. Importante stroma-réaction.

Biopsie faite avant la pommade colchicinée: quelques mitoses. Biopsies faites 24 heures après et 9 jours après: ne montrent aucun résultat. Il y a bien quelques métaphases anormales bloquées, particulièrement dans le tégument qui recouvre le bord de la tumeur, mais cette dernière est presque exclusivement formée de tissus à évolution parakératosique.

Ce premier cas paraissait donc un échec de la colchicine. Rien d'étonnant à cela: son activité mitotique était très faible et surtout l'infection et les dégénérescences cellulaires locales ne laissaient guère de place à la prolifération.

2. — C. I..., 78 ans. Epithélioma cutané atypique, prenant par places l'aspect de foyers cylindromateux.

Première biopsie: pas de mitoses visibles.

Deuxième biopsie, 48 heures après l'application de

pommade à la colchicine: nombreuses mitoses bloquées en dégénérescence, qui occupent *uniquement* les *boyaux pleins*, à l'exclusion du tégument et du tissu conjonctif.

Si la biopsie avait porté sur les boyaux cylindromateux, nous aurions été forcé de conclure que la colchicine n'avait pas agi. Les figures de la planche IV montrent clairement les deux types d'altérations mitotiques provoquées par le toxique: la mitose à chromosomes agglutinés et la mitose à chromosomes dispersés.

Traitement curiethérapique ultérieur, avec bon résultat.

3. — S. M..., 71 ans. Epithélioma cutané atypique, avec transformation cylindromateuse. Activité cellulaire importante. Forte réaction du stroma.

Première biopsie, avant colchicine: mitoses en quantité moyenne.

Deuxième biopsie, après 24 heures de pommade à la colchicine: mitoses colchiciniques en grand nombre. *Elles se localisent uniquement dans les boyaux cellulaires pleins.*

Troisième biopsie, après 6 jours de pommade à la colchicine: les mitoses colchiciniques criblent absolument la préparation. Elles sont en nombre double de celui qu'on a trouvé à la deuxième biopsie.

4. — A. F..., 49 ans. Epithélioma baso-cellulaire de la commissure palpébrale.

Biopsie, 48 heures après pommade à la colchicine: quelques mitoses colchiciniques.

Traitement curiethérapique ultérieur, avec bon résultat.

5. — M. J..., 56 ans. Epithélioma cutané baso-cellulaire à boyaux néoplasiques nécrosés. Vive activité cellulaire. Forte réaction du stroma.

Première biopsie, avant colchicine: on remarque quelques mitoses, ce qui correspond bien à l'aspect nécrotique des boyaux néoplasiques. On sait que l'activité mitotique paraît augmentée dans les phénomènes de nécrobiose.

Deuxième biopsie, 48 heures après pommade colchicinique: nombreuses mitoses bloquées, moins nombreuses cependant que dans d'autres cas, où les cellules, très serrées, marquaient une activité proliférative intense. Peut-être les mitoses étaient-elles déjà intoxiquées par les facteurs de nécrose, elles n'ont pu subir qu'une légère accumulation colchicinique.

Excellent résultat du traitement curiethérapique: régression de la lésion en un mois.

6. — B. H..., 94 ans. Epithélioma cutané atypique, cytologiquement actif, moyenne réaction du stroma.

Quatre jours après, application de pommade à la colchicine; nombreuses mitoses colchiciniques, irrégulièrement disséminées. Traitement curiethérapique, avec bon résultat.

7. — R. P... Epithélioma cutané typique du lobule de l'oreille et du sillon rétro-auriculaire.

Biopsie, 48 heures après application de pommade à la colchicine: mitoses colchiciniques assez nombreuses. La plupart ont l'aspect à chromosomes disséminés.

Traitement curiethérapique ultérieur, avec bon résultat.

MALADE TRAITÉE PAR INJECTION DE COLCHICINE

EN SOLUTION HUILEUSE DANS LA TUMEUR

L'histoire de cette malade vaut d'être contée plus longuement.

Il s'agissait d'un épithélioma fortement pigmenté, évoluant depuis deux ans et siégeant sur la face plantaire du pied gauche. Cette tumeur se serait développée aux dépens d'un nævus pigmentaire. A l'entrée de la malade, elle est bourgeonnante, ulcérée, saignante, de consistance moyenne, fixée aux plans profonds, entourée d'un sillon qui le sépare des téguments voisins. Ceux-ci sont pigmentés par endroits.

Il existe aussi sur la face inférieure du mollet de petites élevures saillantes, recouvertes d'une peau d'apparence normale, non pigmentées, dures, de couleur rosée.

A Dans un premier temps, nous attaquons la tumeur initiale par des injections d'huile colchicinée. Nous faisons trois injections, de 0 gr. 005 chacune, à deux jours d'intervalle, sans observer d'autre réaction générale qu'une légère diarrhée, apparue tardivement au quatrième jour.

Un traitement radiothérapique, puis curiethérapique, est institué immédiatement, en raison de la gravité de l'état, et la malade rentre chez elle.

B) Elle revient faire un séjour plus de deux mois après.

a) La tumeur initiale a considérablement diminué. Elle disparaîtra en quelques jours, pendant le nouveau séjour de la malade;

b) Mais les nodules cutanés métastatiques de la jambe ont augmenté de nombre et de volume.

Nous essayons alors d'arrêter le processus évolutif en agissant sur ces derniers. Choisisant un certain nombre d'entre eux, à l'exclusion des autres, nous faisons une petite expérience qui nous permettra d'avoir une idée précise du mode d'action des injections intratumorales.

Il existe sur le membre inférieur gauche sept groupes de noyaux métastatiques; nous en choisissons deux, dans lesquels nous injectons une petite quantité d'huile colchicinisée. Nous nous assurons d'abord, par deux biopsies, l'une avant, l'autre après le traitement, que ce dernier a bien agi. Or, c'est indiscutable: pas de mitoses dans la première; nombreuses stathmocinèses dans la seconde.

Nous attendons alors un certain temps, et, au bout d'un mois, nous observons que les nodules cutanés injectés de colchicine ont presque complètement régressé: à leur place, il y a de petites plaques kératosiques peu saillantes, *tandis que les nodules non colchicinisés ont doublé de volume et ont continué leur évolution.*

Voilà donc l'expérience décisive: chez un même malade et dans le même tissu, deux groupes de nodules métastatiques reçoivent, l'un des injections de colchicine, l'autre rien; le premier diminue de volume, le second augmente. Un autre nodule métastatique a été traité par la tryptaflavine *sans aucun résultat.*

Nous passons alors à l'expérience inverse, nous injectons dans les nodules ayant doublé de volume une solution huileuse de colchicine. Il est encore trop tôt pour savoir si le même fait se reproduira encore.

Nous avons également appliqué des injections de colchicine (3 injections simultanées, de 0 gr. 005 chacune, en solution huileuse) à une autre malade, qui présentait une volumineuse tumeur creusante de la paroi abdominale, métastase d'un néoplasme ovarien opéré.

L'examen d'une biopsie, pratiquée 24 heures après les injections, nous a montré une quantité énorme de mitoses colchiciniques. Un traitement radiothérapique a été appliqué par la suite et la rétrocession de la lésion s'amorce déjà huit jours après.

Nous rapportons simplement ces observations, qui prouvent :

1° Que la colchicine agit sur la cellule néoplasique comme sur la cellule normale ;

2 Qu'elle est capable d'arrêter, au moins provisoirement, la prolifération ;

3 Que la mise en solution huileuse permet d'utiliser des doses suffisamment énergiques en action locale et que la diffusion est assez lente pour éviter les accidents toxiques généraux.

SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Tout le long de ce travail nous avons côtoyé le problème majeur de la Biologie: celui de la multiplication des cellules et de l'hyperplasie tissulaire. Nous pouvons maintenant établir un lien entre des phénomènes apparemment éloignés les uns des autres, comme la régression d'une tumeur et la production de plantes à grandes fleurs. Ces deux résultats, l'un thérapeutique, l'autre agricole, sont pourtant liés parce que le même alcaloïde du colchique peut conditionner l'un et l'autre. C'est que, nous le croyons du moins, il n'y a pas de cloisons étanches en Biologie, et en Médecine il vaut peut-être mieux aborder un problème par son côté le plus général, en délaissant un peu le point de vue de l'infirmier, qui n'est pas toujours le plus exact, ni le plus fécond.

Nous avons vu DUSTIN arriver à une découverte par une voie détournée, la cytologie pure conduire à des conclusions thérapeutiques et l'expérimentation sur des animaux très différents des Mammifères conclure cependant à des notions applicables à l'Homme. C'est qu'en Biologie, comme ailleurs, si l'on veut éviter de tomber dans un scepticisme absolu, il faut bien admettre que la Vérité est une:

1° Beaucoup de corps chimiques ou de substances biologiques ont été soupçonnés d'agir sur les phénomènes de prolifération et la division des cellules. Parmi eux certains se sont arrogés cette qualité, d'autres l'ont indiscutablement: ces derniers sont doués d'une efficacité générale sur tous les types cellulaires quels qu'ils soient, animaux ou végétaux, êtres inférieurs ou d'organisation complexe, homéothermes ou poïkilothermes. Parmi ces corps dont on peut être assuré qu'ils agissent par un mécanisme direct sur la mitose, un seul est vraiment bien connu: c'est la colchicine.

2° Bien qu'on ait reconnu partout la vivacité, l'intensité et la régularité de l'action de cet alcaloïde, il n'en est pas moins vrai — et nous avons pu le constater nous-même — que celle-ci est sujette à des variations à la fois qualitatives et quantitatives, assez mal expliquées. Doit-on penser qu'il y a des organes particulièrement sensibles aux agressions toxiques et même à d'autres actions venues de l'extérieur? Y a-t-il des chromatines « euclastiques », suivant la conception de DUSTIN? Le fait semble acceptable en gros pour le thymus et les organes lymphoïdes. Quoi qu'il en soit, faut-il attribuer les discordances observées à une sensibilité différentielle des organes, ce qui représente, disons-le en passant, une explication assez verbale? Viennent-elles simplement de ce que la colchicine, agent spécialement électif, agit sur un tissu au prorata de l'activité divisionnelle dans ce tissu? Ou bien faut-il faire intervenir le degré ou la vitesse de pénétration et peut-être les transformations chimiques que subit le toxique, avant d'arriver jusqu'à l'effecteur cellulaire?

Il est probable que ces diverses causes interviennent pour donner la raison de ces différences d'action. En tous cas, comme l'a montré BUZARD, l'injection de try-paflavine, considérée comme d'efficacité nulle sur le testicule, à l'intérieur même du tissu spermatique, prouve qu'une action toxique peut apparaître, là où elle semblait inexistante auparavant, simplement parce qu'on a porté le poison au contact même des cellules qu'on veut léser.

3° Si l'on s'adresse à un matériel susceptible de subir directement et d'une façon régulière l'action toxique étudiée (par exemple cultures de tissus ou œufs), l'effet biologique obtenu apparaît comme relativement simple et soumis à des lois générales, qui peuvent même donner prise à l'analyse mathématique.

4° Si l'on augmente la dose de poison ou si de deux substances d'activité à peu près égale, l'une d'elles est douée d'une toxicité plus élevée, l'effet apparent du toxique le plus actif peut se montrer d'abord comme paradoxal (exemple: colchicine à hautes doses), mais si l'on connaît mieux les lois qui régissent cette action, on arrive à expliquer ce paradoxe apparent d'une façon très simple: en augmentant la dose de colchicine on n'augmente pas nécessairement le nombre de mitoses colchiciniques, mais l'effet inhibiteur s'accroît au pro-rata de la dose. En revanche, quand on s'adresse à des effets biologiques complexes (tels que effets inverses d'un médicament sur la tension artérielle, par exemple), il va de soi qu'on ne peut arriver à de pareilles précisions. C'est justement en choisissant comme effet un phénomène simple et très général, comme la division cellulaire, qu'on peut arriver à une analyse critique. très

rigoureuse et à des lois indiscutablement établies. Cela évite d'admettre trop rapidement et sur le vu de préparations apparemment caractéristiques, des actions d'excitation sur la division cellulaire (rayons X et cacadylate à faibles doses, colchicine au début), puis d'inhibition dans des conditions différentes (rayons X et cacadylate à doses fortes, colchicine à la deuxième phase), comme DUSTIN en avait émis l'hypothèse.

5° L'étude cytologique à laquelle nous nous sommes livré montre qu'il existe toute une gamme d'effets passant par une série de paliers successifs: action sur le cloisonnement, l'orientation du fuseau et sa formation qui aboutissent aux anomalies suivantes: cellules plurinucléées, modifications de l'axe de poussée proliférative, pluriporalité et aberrances, enfin ralentissement et blocage au milieu de la division. Un degré de plus, et celle-ci s'avère impossible: la cellule ne peut même pas entrer en prophase (cas des rayons X par exemple). Tantôt le même corps peut donner des effets différents suivant les doses, tantôt leur toxicité respective suffit à établir des distinctions entre eux (gamme croissante: paradichlorobenzène, acénaphène, colchicine, chloral, rayons X et peut-être tryptaflavine).

6° S'opposant à la plasticité et à la résistance de la cellule végétale, qui, même intoxiquée, peut reconstituer son noyau malgré l'absence d'anaphase, la réaction de la cellule animale montre avant tout une dégénérescence. Or, si la polyploïdie peut créer des races nouvelles, la dégénérescence des cellules est un moyen thérapeutique de destruction des tumeurs.

7° Il semble actuellement que la plupart des effets observés soient en relation avec des phénomènes physi-

ques (viscosité, perméabilité, courants d'osmose intracellulaires), mal connus mais certains. Il faut opposer les *poisons de la chromatine* (poisons caryoclasiques de DUSTIN) qui agissent en détruisant le noyau par pycnose et les *poisons de la division* qui atteignent le cytoplasme ou le fuseau, éléments moins fixes de la cellule. Les premiers pourraient être appelés *caryolytiques* et les seconds *mito-inhibiteurs*. La possibilité de découvrir des poisons *excitomitotiques* paraît actuellement bien douteuse.

8° Dans la mesure où les premiers peuvent détruire les cellules au repos (action sur le thymus), où les seconds peuvent inhiber la prolifération, par dégénération de la mitose chez l'animal, on peut les utiliser chez l'Homme comme cancéricides, à condition que leur toxicité soit faible pour l'organisme en général et pour les cellules normales en particulier.

9° Dans la mesure où la colchicine, poison mito-inhibiteur, « à action itérative » (Garrigues) peut accumuler dans une zone germinative les mitoses bloquées, elle peut servir de test biologique pour la détection des zones divisionnelles et des tissus en hyperplasie. La théorie excitomitotique ne confère pas à ce test une plus grande valeur théorique.

10° Enfin, et bien que l'excès de prolifération ne soit pas le seul caractère de la malignité cellulaire, peut-on espérer au moyen de ces toxiques arrêter cette prolifération redoutable et permettre aux facteurs de destruction de reprendre le dessus? Les essais que nous avons faits en clinique semblent autoriser cet espoir. En attendant, la colchicine, par ses propriétés, peut être considérée comme un facteur de radio-sensibilité artificielle

et en tous cas peut préparer les tissus à recevoir l'action énergétique des radiations.

Aussi bien dans la conduite de nos expériences, parmi les tâtonnements et les lenteurs du travail technique, que dans les patientes recherches bibliographiques, nous avons retrouvé non pas des faits isolés, mais un faisceau d'observations à comparer entre elles, à analyser et à critiquer.

Pendant que se déroulait devant nos yeux l'immense travail expérimental qui a précédé nos modestes recherches et pendant que nous interrogeons, avec anxiété parfois, les réactions de la cellule vivante, nous avons pu voir grandir et se renforcer peu à peu un ensemble d'idées, qui ne nous étaient pas apparues d'abord comme évidentes. Ces idées n'étaient appuyées ni sur quelques faits, ni sur quelques inductions, ni sur des lois, au sens mathématique du mot, mais elles puisaient leur force dans une convergence saisissante de preuves et construisaient un édifice savamment harmonisé. Nous ne pouvions évidemment pas leur demander la certitude, mais, comme dit BERGSON, « cette probabilité indéfiniment croissante qui supplée l'évidence et qui y tend comme à sa limite ».

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERTI (W.) und POLITZER (G.). — Über den Einfluss der Roentgenstrahlen auf die Zellteilung. *Arch. f. mikr. Anat. und Entwicklungsmechanik*, t. c, pp. 89-109, 1923.
- ALBERTINI. — Die « Flemmingschen Keimzentren ». *Ziegler's Beitrage*, t. LXXXIX, 1, 1932.
- ALLEN (E.), SMITH (G.-M.) and GARDNER (W.-U.). — Accentuation of the growth effect of theelin on genital tissues of the ovariectomized mouse, by arrest of mitosis with colchicine. *Amer. Journ. of Anatomy*, t. LXI, pp. 321-329, 1937.
- *Anatomical Record*, suppl., t. XLIX, 1936.
- ALLEN (E.) et ROGERS. — *Endocrinology*, t. XXI, p. 412, 1937.
- ALLEN (E.) et LEBLOND (C.-P.). — Emphasis of the growth effect of prolactin on the crop-gland of the pigeon by arrest of mitoses with colchicine. *Endocrinology*, t. XXI, n° 4, p. 455, 1937.
- *Anat. Record*, suppl., t. LXVII, n° 43, p. 32.
- ALLEN (E.). — Colloque intern. au Collège de France, 1937.
- AMOROSO (E.-C.) et HAYES. — Colchicine and tumour growth. *Nature*, t. CXXXV, pp. 266-267, 16 février 1935.
- ANCEL (P.) et LALLEMAND (S.). — Sur la tératogénie de la strophosomie expérimentale chez le Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, p. 385, 1939.
- Sur le diagnostic précoce de la strophosomie d'origine colchicinique chez l'embryon de Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, n° 12, p. 1396, 1939.

- ANCEL (P.) et LALLEMAND (S.). — Sur la réalisation au moyen de la colchicine d'embryons de Poulet coelosomiens. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxx, p. 1396, 1939.
- Réalisation expérimentale à l'aide de la colchicine de Poulets coelosomiens. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccvii, p. 1446, 27 déc. 1938.
- Sur l'obtention de strophosomie chez le Poulet à l'aide de la ricine. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccxii, n° 8, p. 312, 1941.
- Sur l'action tératogène de substances chimiques chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccxii, n° 8, p. 313, 1941.
- ARLOING (F.) et LANGERON (L.). — Action de la colchicine dans les phénomènes expérimentaux de sensibilisation et de choc. *C. R. Soc. Biol.*, p. 1321, 1926.
- ARVY (L.) et CARIDROIT (F.). — Action de la colchicine chez les Oiseaux. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxiv, n° 7, p. 452, 1939.
- Action de doses faibles de colchicine sur le plumage des Oiseaux. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxiv, n° 8, p. 499, 1940.
- *Revue Scientifique*, t. lxxviii, mars 1940.
- ASO (K.). — On the action of naphtalin on plants. *Bull. Collège of Agric. Tokyo*, t. vii, p. 413, 1907.
- BASTENIÉ (P.). — Contribution à l'anatomie pathologique du thymus humain. *Arch. int. méd. exp.*, t. vii, p. 273, 1932.
- BASTENIÉ (P.) et ZYLBERSZAC (S.). — Mise en évidence de stimulations hormonales par la méthode colchicique de Dustin. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. xiii, fasc. 1, pp. 185-203, mars 1938.
- Mise en évidence de stimulations hormonales par la colchicine. Détection de l'action stimulatrice du propionate de testostérone sur les vésicules séminales du Rat. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxvii, p. 891, 1938.
- Mise en évidence de stimulations hormonales par la colchicine. Détection de la stimulation thyroïdienne par l'extrait antéhypophysaire. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxvii, p. 446, 1938.

- BASTENIÉ (P.) et ZYLBERSZAC (S.). — Mise en évidence de stimulations hormonales par la colchicine. Action de l'extrait antéhypophysaire sur l'appareil génital du Cobaye impubère. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxvii, p. 1282, 1938.
- Mise en évidence de stimulations hormonales par la colchicine. Doses croissantes de proprionate de testostérone sur l'appareil génital du Rat mâle castré. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxvii, p. 1283, 1938.
- Mise en évidence de stimulations hormonales par la colchicine. Stimulation des parathyroïdes. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxvi, p. 822, 1937.
- BATES (G.-H.). — Polyploidy induced by colchicine and its economic possibilities. *Nature*, t. cxliv, p. 315, 1939.
- BAUMANN (R.). — Experimentelle Thalliumeffekte an Ratten und Mäusen. *Acta Radiologica*, Bd 62, t. viii, p. 425, 1930.
- BEAMS (H.-W) et KING (R.-L.). — An experimental study on mitosis with somatic cells of wheat. *Biol. Bul.*, t. lxxv, p. 189-207, 1938.
- BECK. — Etude de la leucocytose disséminée par la colchicine. *Arch. für. Exp. Path. und Pharmac.*, t. clxv, p. 208, 1932.
- BERNARD (J.). — Leucémie aiguë. Essai de traitement par les injections intramédullaires de colchicine. Modifications médullaires et sanguines. *Le Sang*, (Soc. Fr. d'Hématol., 6 mars 1939), t. xiii, pp. 434-437, 1939.
- BERTELOTTI (L.). — L'azione dell' arsenobenzolo sui tumori da innisto. *Minerva Med.*, t. ii, pp. 602-605, 1935.
- BLAKESLEE (A.-F.). — Dédoublement du nombre des chromosomes chez les plantes par traitement chimique. *C. R. Acad. Sciences*, t. xxviii, pp. 476-479, 1937.
- BLAKESLEE (A.-F.) et AVERY (A.-G.). — Methods of inducing doubling of chromosomes in plants. *Journ. of Heredity*, t. xxviii, pp. 395-411, 1937.

- BLAKESLEE (A.F.). and AVERY (A.-G.). — *Journ. of Heredity*, t. XXIX, pp. 3-9, 1938.
- BOYLAND (E.) et BOYLAND (M.-E.). — The action of the colchicine and *B. typhosus* extract. *Biochem. J.*, t. XXXI, n° 3, pp. 454-460, 1937.
- Actions biochimiques de la colchicine. *Chemistry Industry*, t. LV, p. 840, 1936.
- Etude du métabolisme cellulaire. Action de la colchicine, comparée à celle du *B. typhosus*. *Bull. Soc. Chim.*, 1937.
- BOYLAND (E.) and HUNTSMAN MAWSON (E.). — The conversion of colchicine into colchicine. *Biochem. Journ.*, t. XXXII, n° 7, pp. 1204-1206, 1938.
- BRUES (A.-M.). — The effect of colchicine on regenerating liver. *Journ. of Physiol.*, t. LXXXVI, p. 63, 1935.
- BRUES (A.-M.) et COHEN (A.). — Effects of colchicine and related substances on cell divisions. *Biochem. J.*, t. XXX, p. 1363, 1936.
- BRUES (A.-M.) et JACKSON (E.-B.). — Nuclear abnormalities resulting from inhibition of mitosis by colchicine and other substances. *Am. Journ. of Cancer*, t. XXX, n° 3, pp. 504-511, 1937. 9 figures.
- BUREAU (V.) et VILTER (V.). — Action de la colchicine sur les cellules épithéliales de l'*Axolotl*. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXII, n° 25, p. 553, 1939.
- La colchicine doit-elle être considérée comme un stimulant de la division cellulaire ? *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXII, n° 25, p. 558, 1939.
- BUSQUET (H.). — Sur l'activation des effets circulatoires des substances sympathicomimétiques par la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, p. 870, 1939.
- CARLETON (A.). — A note on the effect of colchicine on the skin of young rats. *Journal of Anatomy*, t. LXXIII, p. 416, 1938-1939.
- CARNOT (P.) et MAY (R.-M.). — La régénération du rein chez le Rat, étudiée au moyen de la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVIII, p. 641, 1938.

- CARNOT (P.) et Mme COQUOIN--CARNOT. — Réparation accélérée par l'acénaphène des ulcères gastriques expérimentaux. *C. R. Soc. Biol.* t. cxxxi, p. 514, 1939.
- CAVALLERO (C.). — Etude de la cirrhose expérimentale par le tétrachlorure de carbone à l'aide de la réaction stathmocinétique (colchicinique) de DUSTIN. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. xiv, fasc. 1, pp. 1-14, déc. 1939.
- Réactions hormonales au cours de l'intoxication par le tétrachlorure de carbone, poison cirrhogène, mises en évidence par la méthode stathmocinétique (colchicinique) de DUSTIN. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. xiv, fasc. 1, pp. 15-22, 1939.
- Les glandes endocrines au cours de la grossesse. Etude cytophysiologique, faite à l'aide de la réaction colchicinique (stathmocinétique) de DUSTIN. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. xiv, fasc. 3, pp. 125-135, déc. 1939.
- Tumori, 1939.
- CHODKOWSKI (K.). — Sur les propriétés caryoclasiques de la saponine. *Arch. Int. Méd. expér.*, t. xiii, fasc. 4, pp. 665-685, fév. 1939.
- Die karyoklastischen Gifte ihr Einfluss auf den Organismus und ihre Bedeutung für die Pathologie. *Protoplasma*, Bd 28, Ht 4, 1937.
- CLEARINKIN (P.-A.). — The effect of colchicine on normal and néoplastic tissues in mice. *Journ. of Path. and Bact.*, t. XLIV, n° 2, p. 469, 1937.
- CLOWES (G.-H.-A.), KRAHL (M.-E.) and KELTCH (A.-K.). — Studies on the mechanism of cell division block by substituted phenols. *Am. Journ. of Cancer*, t. xxx, p. 584, 1937.
- COLEMAN (C.-J.). — The coagulation of blood and the effect of certain drugs and toxins upon it. *Biochem. Journ.*, t. II, pp. 184-205, 1907.
- CORNIL (L.) et POURSINES (V.-P.). — Action caryoclasique du venin d'abeille sur le parenchyme hépatique du Rat. *C. R. Assoc. Anat.*, 32° Réun., Marseille, pp. 92-103, 1937.

- COOK (R.-C.). — A tetraploïd Zinnia. *Journal of Heredity*, t. XXIX (V), pp. 187-188, 1938.
- DALCQ (A.). — Comment se forme le pronucléus mâle? Le centrosome spermatique intervient-il nécessairement dans la formation de la figure de division de l'œuf fécondé. *C. R. Assoc. Anat.*, 21^e Réunion, Liège, pp. 183-185, 1936.
- Rôles respectifs de la portion chromosomiale et du suc hyalin du noyau spermatique dans la fécondation. *C. R. Assoc. Anat.*, 22^e Réunion, Londres, pp. 71-78, 1927.
- Les bases physiologiques de la fécondation et de la parthénogénèse. *Presses Univers. de France*, 1928.
- DECAUX (F.). — Le colchique d'automne. *Revue de Phytothérapie*, nov. 1938.
- DE LAET (M.). — Le choc caryoclasique de DUSTIN au point de vue de la toxicologie et de la chimiothérapie. *Bruxelles Médical*, t. II, p. 948, 19 juin 1932.
- DELCOURT (R.). — Contribution à l'étude des réactions cellulaires provoquées par la colchicine: Le choc caryoclasique chez les Amphibiens. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. XIII, fasc. 3, pp. 499-515, 1^{er} oct. 1938.
- Recherches sur les réactions et lésions cellulaires provoquées par la colchicine. Le choc caryoclasique chez les Amphibiens. *Arch. Int. de Méd. exp.*, t. XIII, fasc. 4, pp. 719-783, 1939.
- DERMEN (H.). — A cytological analysis of polyploïdy induced by colchicine and by extremes of temperature. *Journ. of Heredity*, t. XXIX, n^o 6, pp. 211-229, 1938.
- DOMINICI (A.). — In *Thérapeutique Médicale*. Peau, syphilis, cancer, par LÆPER, MILIAN, Paris, Masson, 1932.
- DIXON (W.-E.). — *Manual of Pharmacology*. London, Arnold, p. 95, 1906.
- DIXON (W.-E.) and MALDEN (W.). — Colchicine with special reference to its mode of action and effect on bone marrow. *Journ. of Physiol.*, t. XXXVII, p. 50, 1908.

DU BUY (H.-G.) et OLSON (A.). — *Am. Journ. of Bot.*, t. XXVII, 1940.

DUHAMET (L.). — Action de la colchicine sur la croissance des méristèmes radiculaires de *Lupinus albus*. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXI, n° 19, p. 757, 1939.

DUSTIN (A.). — Recherches d'histologie normale et expérimentale sur le thymus des Amphibiens anoures. *Arch. de Biol.*, t. XXVIII, 1913.

— Influence de l'alimentation sur le développement du thymus de *Rana Fusca*. *C. R. Assoc. Anat.*, 15° Réunion, Lausanne, pp. 28-38, 1913.

— Influence d'une alimentation riche en nucléines sur la régénération saisonnière du thymus de la Grenouille adulte. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXI, p. 1068, 1919.

— Recherches d'histologie normale et expérimentale sur le thymus des Amphibiens anoures. *Arch. Biol.*, t. xxx.

— Déclenchement expérimental d'une onde cinétique par l'injection intra-péritonéale de sérum. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 23, 1921.

— Influence du mode d'introduction sous-cutanée ou intra-péritonéale d'une albumine étrangère sur le déclenchement de l'onde de cinèses. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 25, 1921.

— Ondes de cinèses et ondes de pycnoses dans le thymus de la Souris après injection intra-péritonéale de sérums étrangers. *C. R. Soc. Biol.* t. LXXXV, p. 260, 1921.

— Phénomènes de caryochexis dans le thymus humain. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 1103, 1921.

— Quelques idées actuelles sur les fonctions du thymus. *C. R. Assoc. Anat.*, 16° Réunion, Paris, pp. 55-59, 23 mars 1921.

DUSTIN (A.-P.) et Mlle CHAPEAUVILLE (J.). — Les caractères de l'onde cinétique déclenchée par une injection intra-péritonéale de peptone. *C. R. Soc. Biol.* t. LXXXVI, p. 509, 1922.

- Etude de l'onde cinétique déclenchée chez la souris par injection intra-péritonéale de sérine, de CO_2 —globuline et de sérine + globuline. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVI, p. 953, 1922.
- DUSTIN (A.-P.). — Influence d'injections intra-péritonéales répétées de peptones sur l'allure de la courbe des cinèses. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 371, 1922.
- Les phénomènes d'accoutumance, de cinéphyxie et d'épuisement dans l'allure des ondes de cinèses obtenues par injections répétées de protéines étrangères. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 1235, 1922.
- Thymocytes et lymphocytes. Démonstration expérimentale de leurs différences de potentialité. *Revue Franç. d'Endocrinologie*, t. I, n° 4, 1923.
- Quelques idées nouvelles sur la pathogénie des tumeurs malignes. *Bruxelles Médical*, 6 déc. 1923.
- Les bases cyto-physiologiques nécessaires à l'étude du cancer. *Bull. de la Soc. Roy. des Sc. Méd. et Nat. de Bruxelles*, n°s 3, 4, 5, 1924.
- A propos des « tréphocytes » de Carrel et Ebeling. *C. R. Soc. Biol.*, t. xc, p. 371, 1924.
- Etude expérimentale de la pycnose provoquée par variation brusque de la réaction du milieu intérieur. *C. R. Soc. Biol.*, t. xci, p. 1439, 1924.
- L'onde de pycnoses déterminée par les injections acides et l'onde de mitoses consécutive. *C. R. Soc. Biol.*, t. xcii, p. 217, 1925.
- La pycnose expérimentale ou crise caryoclasique réalisée par l'injection des dérivés de l'aniline. *C. R. Soc. Biol.* t. xciii, p. 464, 1925.
- A propos d'un travail de WATJEN sur l'action de l'arsenic sur les organes lymphoïdes. *C. R. Soc. Biol.*, t. xciii, p. 467, 1925.
- Les sensibilités différentielles aux poisons caryoclasiques chez la Souris blanche. *C. R. Soc. Biol.*, t. xciii, p. 1535, 1925.

- Introduction à l'étude des tumeurs. Les maladies et les poisons de la chromatine. Conférence donnée aux Journées médicales de juin 1925, à Bruxelles. In *Bruxelles Médical*, p. 1257, 1924-1925 (II).
- Le phénomène de l'excrétion sphérulaire dans l'intestin grêle de la Souris au cours des premiers jours de la vie extra-utérine. *Arch. de zool. exp. et gén.*, 2^e vol., t. LXXV, p. 353, 1925.
- Influence des variations brusques du pH sur le thymus et les organes lymphopoïétiques. *C. R. Assoc. Anat.*, 20^e Réunion, Turin, pp. 203-205, avril 1925.
- Du thymus au cancer. Etude des mécanismes cytorégulateurs chez les Vertébrés. *Bull. Ass. Fr. pour l'étude du cancer*, t. XIV, n^o 8, nov. 1925.
- Comment faut-il concevoir les fonctions du thymus? *Arch. Int. Méd. exp.*, t. III, fasc. 11, pp. 367-681, 1927.
- *Strasbourg Médical*, t. I, 20 février 1927.
- Etude comparative entre l'action des radiations et l'action des poisons caryoclasiques. *Le Cancer*, 1927.
- Contribution à l'étude radiologique des épithéliomas du col utérin traités par la télécuriethérapie. Les courbes de pycnoses, de mitoses normales et de mitoses atypiques. *Bull. Acad. Roy. Méd. Belg.*, 26 mars 1927.
- Comparaison entre l'action des radiations et l'action des poisons caryoclasiques. Conférence faite à Strasbourg, nov. 1926. *Strasbourg Médical*, t. LXXXV, 1927.
- Thymus et hématopoïèse. *Strasbourg Médical*, t. LXXXV, janvier 1927.
- Les poisons caryoclasiques, moyens d'analyse cytophysiologique. *Arch. d'Anat. Microsc.*, t. XXV, pp. 37-47, 1929.
- Trois leçons sur la régulation de la multiplication cellulaire à l'état normal et à l'état pathologique. *Revue Médicale de l'Est*, t. LVII, pp. 1-43 et pp. 49-84, 1929.

DUSTIN (A.-P.) et PITON (R.). — Etudes sur les poisons caryoclasiques. Les actions cellulaires déclenchées par les composés arsenicaux. *Bull. Acad. Roy. de Méd. de Belg.*, t. xxxv, p. 26, 23 févr. 1929.

— Recherches sur les actions caryoclasiques et caryocinétiques des composés arsenicaux. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. v, 1929.

DUSTIN. — Action caryoclasique de l'acide arsénieux et alcalose. *C. R. Soc. Biol.*, t. ciii, p. 953, 1930.

— Recherches sur l'action des poisons caryoclasiques sur les tumeurs malignes. Action du bleu d'isamine VI B. (tri β naphthylpararosaniline sulfonée) sur les épithéliomas humains. *Bull. Acad. Roy. de Méd. Belg.*, pp. 19-43, 25 janv. 1930.

DUSTIN (A.-P.) et LEROY (M.). — Etudes sur les propriétés caryoclasiques des toxines microbiennes : la toxine diphtérique. *Bull. Acad. Roy. de Méd. Belg.*, t. xi, pp. 100-116, 28 fév. 1931.

DUSTIN (A.-P.), PITON (R.) et ROCMANS (R.). — Etude comparative des altérations histologiques et des variations du pH sanguin après irradiation. *C. R. Soc. Biol.*, t. cvii, p. 1562, 1931.

DUSTIN (A.-P.) et GRÉGOIRE (C.). — Etude comparée de l'action des rayons X sur le thymus adulte et sur le thymus embryonnaire. *C. R. Soc. Biol.*, t. cvii, p. 1565, 1931.

DUSTIN (A.-P.). — Remarques sur les effets caryoclasiques du benzol. *C. R. Soc. Biol.*, t. cvii, p. 1567, 1931.

DUSTIN (A.-P.) et ZYLBERSZAC (S.). — Sur les propriétés caryoclasiques des iodures. *C. R. Soc. Biol.*, t. cvii, p. 1570, 1931.

DUSTIN (A.-P.). — Les chromatines euclastiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. cviii, p. 1155, 1931.

DUSTIN et ZYLBERSZAC (S.). — Le mécanisme d'action des agents chimiothérapiques et leurs propriétés caryoclasiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. cviii, p. 1156, 1931.

— Contribution à l'étude des propriétés caryoclasiques du mercure. *C. R. Soc. Biol.*, t. cviii, p. 1158, 1931.

- DUSTIN (A.-P.), et GRÉGOIRE (C.). — Contribution à l'étude de la mitose diminutive ou élassotique dans le thymus des Mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, t. CVIII, p. 1159, 1931.
- DUSTIN (A.-P.) et ZYLBERSZAC (S.). — Influence de la splénectomie sur la sensibilité du thymus aux agents caryoclasiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. CVIII, p. 1162, 1931.
- DUSTIN (A.-P.). — Recherches sur les réactions radiobiologiques de l'amygdale. *C. R. Soc. Biol.*, t. CIX, p. 950, 1932.
- Nouvelles recherches sur l'action de la tryptaflavine sur l'intestin grêle. *C. R. Assoc. Anat.*, 27^e Réunion, Nancy, pp. 249-253, mars 1932.
- DUSTIN (A.-P.) et GRÉGOIRE (C.). — Action caryocinétique des composés arsenicaux sur les tumeurs greffées. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIV, p. 195, 1933.
- DUSTIN (A.-P.) et ZYLBERSZAC (S.). — Mise en évidence du système réticulo-endothélial par une substance sans effet caryoclasique. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIII, p. 89, 1933.
- DUSTIN (A.-P.). — Quelques aperçus anatomo-pathologiques sur le mode d'action des produits chimiothérapiques. Conférence faite le 19 mars 1932, à l'Institut de Dermatologie de Strasbourg. *In Bruxelles Médical*, 13^e an., n^o 37, p. 1035, 1932-33.
- DUSTIN (A.-P.) et GRÉGOIRE (Ch.). — Contribution à l'étude de l'action des poisons caryoclasiques sur les tumeurs animales. Premier mémoire: action du cacodylate de soude et de la tryptaflavine sur le sarcome greffé, type Crocker, de la Souris. *Bull. Acad. Roy. Méd. Belg.*, t. XIII, pp. 585-592, 1933.
- DUSTIN (A.-P.). — L'apport de la cytologie expérimentale à la connaissance des mécanismes cytorégulateurs. *C. R. 2^e Congrès du Cancer*, Madrid, 1933.
- DUSTIN (A.-P.) et ZYLBERSZAC (S.). — Mise en évidence du S. R. E. par une substance sans effet caryoclasique. *C. R. Assoc. Anat.*, 28^e Réunion, Lisbonne, pp. 275-276, avril 1933.

- DUSTIN (A.-P.). — Contribution à l'étude de l'action des poisons caryoclasiques sur les tumeurs animales. Deuxième mémoire: action de la colchicine sur le sarcome greffé, type Crocker, de la Souris. *Bull. Acad. Roy. Méd. Belg.*, t. xiv, p. 487, juill. 1934.
- DUSTIN (A.-P.) et ZYLBERSZAC (S.). — A propos du mécanisme du choc caryoclasique. Comportement des organes lymphopoiétiques et du thymus de la Souris et du Rat blanc après néphrectomie double. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxv, p. 411, 1934.
- DUSTIN (A.-P.). — La chimiothérapie du cancer est-elle réalisable? *La lutte contre le cancer*, 1934, n° 44.
- La radiothérapie et la chimiothérapie, envisagées à la lumière des travaux sur les chocs caryoclasiques. *Journ. des Sc. Méd. de Lille*, t. XLIX, pp. 561-573, 9 fév. 1934.
- *Arch. Belg. de Médecine*, 14 juillet 1934.
- L'action de la colchicine sur les tumeurs malignes. *Leuwenhoek Ver.*, IV^e Conf., p. 7, juin 1935.
- VII^e cours international de haute culture médicale (Fondation Tomarkin, Brux.), 1935.
- La colchicine réactif de l'imminence caryocinétique. *Arch. port. des Sc. Biol.*, t. v, p. 38, 1936.
- La colchicine et ses applications à quelques problèmes de cytophysiologie. *Vol. jubilaire du Prof. Demoor*, Bruxelles, 1937.
- DUSTIN (A.-P.) et CHODKOWSKI (K.). — Etude de la cicatrisation par la réaction colchicinique. *C. R. Assoc. Anat.*, 32^e Réunion, Marseille, pp. 170-176, mars 1937.
- DUSTIN (A.-P.), LITS (F.-J.) et HAVAS (L.). — Action de la colchicine sur les divisions cellulaires chez les Végétaux. *C. R. Assoc. Anat.*, 32^e Réunion, Marseille, pp. 177-181, avril 1937.
- DUSTIN (A.-P.). — Histoire des poisons caryoclasiques et exposé de quelques-unes de leurs nouvelles applications à la pathologie expérimentale. Conférence

- donnée à la Faculté de Médecine de Montpellier.
Montpellier Médical, t. xvi, n° 3, pp. 93-108, sept. 1939.
- Colchicine et Cancer. *Gaz. Hôp. Paris*, 111^e année, pp. 661-665, 21 mai 1938.
 - C. R. Congrès de Cytologie, Zurich, août 1938.
 - L'action des arsenicaux et de la colchicine sur la mitose: la « stathmocinèse ». *C. R. Ass. Anat.*, Bâle, 10-14 avril 1938.
 - Le mode d'action des médicaments chimiothérapiques permet-il d'espérer une chimiothérapie du cancer? *Conf. faite à la Soc. Méd. Chir. du Brabant*, 1^{er} mars 1938.
 - Nouvelles applications des poisons caryoclasiques à la pathologie expérimentale, à la cancérologie et à l'endocrinologie. *Le Sang*, t. xii, n° 7, pp. 677-697, 1938. (Soc. Fr. d'Hémat., 13 décembre 1937.)
- DUSTIN (A.-P.) et CHODKOROSKI (K.). — Etude de la cicatrisation par la réaction colchicinique. *Arch. Inter. Méd. exp.*, t. xiii, fasc. 3, oct. 1938.
- DUSTIN (A.-P.). — A propos des applications des poisons caryoclasiques à l'étude des problèmes de pathologie expérimentale, de cancérologie et d'endocrinologie. *Arch. für experimentelle Zellforschung*, t. xxxii, pp. 395-404, 1939.
- DUSTIN (A.-P.). — La cytotoxicologie et ses applications récentes. *Ann. Soc. Roy. Sc. Méd. et Nat. Bruxelles*, p. 21, 1939.
- EIGSTI (O.-J.). — A cytological study of colchicine effects in the induction of polyploidy in plants. *Proceed. Nation. Acad. of Sciences*, t. xxiv, n° 2, p. 60, 1938.
- FIRKET (J.). — Recherches sur la régénération des plaquettes dans l'intoxication par la saponine et après défibrination du sang. *Arch. de Biol.*, t. i, 1922.
- FIRKET (J.) et BOUILLE. — Recherches sur le rôle phagocytaire des mégacaryocytes du tissu myéloïde. *Ann. d'Anat. Path.*, t. ii, n° 4, p. 289, 1925.

- FIRKET (J.) et LINHOFF (Cl.). — Sur l'action des injections intra-péritonéales d'huile de paraffine et de solutions huileuses d'oléate ferreux sur les tissus lymphoïdes, le thymus et les séreuses péritonéales. *C. R. Soc. Biol.*, t. xcii, n° 9, p. 754, 1925.
- FIRKET (J.). — Pycnoses thymiques et régénération. *C. R. Soc. Biol.*, t. xcvi, p. 1818, 1927.
- FIRKET (J.) et DE SOUZA-CAMPOS. — Generalized megacaryocytic reaction to saponin poisoning. *Bulletin of the John Hopkins Hospital*, t. xxxiii, n° 378.
- FIESER (L.-F.). — Chemistry of natural products related to phenantrene. *New-York Reynolds Pub. Corp.*, 1936.
- FLEISCHMANN, WALTER und S. KANN. — Über das colchicin als Hilfsmittel beim Studium hormonal bedingter Wachstumsvorgänge. *Biochem. Zeitsch.*, t. ccxcvi, pp. 373-382, 1938.
- FREUD (J.) and UYLDERT. — The influence of colchicine upon mitosis in the intestine in normal and adrenalectomized rats. *Acta Brevia Neerland*, t. viii, pp. 16-19, 1938.
- FYFE (J.-L.). — The action and use of colchicine in the production of polyploid plants. *Imp. Bureau of Plant Breed and Gen.*, p. 576, 1^{er} avril 1939.
- GALEOTTI. — *Beitr. Path. Anat.*, t. xiv, 1893.
- *Id.*, t. xx, 1896.
- GARRIGUES (R.). — Action de la colchicine et du chloral sur les racines de *Vicia faba*. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccvii, p. 461, 1939.
- Action de la colchicine et du chloral sur les racines de *Vicia Faba*. *Revue de Cytol. et de Cytophysiol. Végét.*, t. iv, fasc. III, et IV, p. 261, 1940.
- Actions de quelques substances huileuses sur les racines de *Pisum sativum*. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxv, n°s 13 et 14, p. 1065, 1941.
- GAVAUDAN (P.) et POMRIASKINSKY-KOBOZIEFF (N.) — Sur l'influence de la colchicine sur la caryocinèse dans les méristèmes radiculaires d'*Allium cepa*. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxv, p. 705, 1937.

- GAVAUDAN (P.) et KOBOZIEFF (N.). — Action de la colchicine sur la caryocinèse et la cytodièrese des Chlamidomonadinées. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVI, p. 790, 1937.
- GAVAUDAN (P.) et (N.). — Modifications numériques et morphologiques des chromosomes induites chez les végétaux par l'action de la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVII, p. 985, 1937.
- Mécanisme d'action de la colchicine sur la caryocinèse des végétaux. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVIII, p. 714, 1938.
- GAVAUDAN (P.). — Sur les tissus à constitution mixte diploïde et polyploïde développés chez les végétaux par action de la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVIII, p. 717, 1938.
- GAVAUDAN (P.) et (N.), et DURAND (J.-F.). — Sur la similitude d'action de l'acenaphtène et de la colchicine dans l'inhibition de la caryocinèse. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIX, p. 559, 1938.
- Action du naphthalène et du diphényle sur la caryocinèse. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, p. 53, 1939.
- GAVAUDAN (P.) et (N.). — Comparaison du mode d'action de quelques substances inhibitrices de la caryocinèse. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, p. 432, 1939.
- Sur les anomalies de la caryocinèse et de la cytodièrese provoquées par le naphthalène et les β -naphthylethers. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, p. 1234, 1939.
- GAVAUDAN (P.) et (N.), et DURAND (J.-F.). — Sur les anomalies de la caryocinèse et de la cytodièrese provoquées par le chloronaphthalène et le paradichlorobenzène. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, p. 1443, 1939.
- GAVAUDAN (P.) et (N.). — Tuméfaction des racines par les substances modificatrices de la caryocinèse. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, p. 168, 1939.
- Mise en évidence sur les méristèmes radiculaires de *Triticum vulgare* de l'existence d'une propriété mito-inhibitrice commune aux divers apiols. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, p. 998, 1^{er} juillet 1939.

- Action sur la caryocinèse, la cytotiérèse et la morphogénèse des végétaux de quelques dérivés des hydrocarbures cycliques. Rôle de la constitution chimique et des propriétés physiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXIII, p. 348, 1940.
- GAVAUDAN (P.) et (N.), et DURAND (J.-F.). — Sur l'induction de la polyploïdie dans les cellules somatiques de quelques graminées par action de vapeurs d'acé-naphtène. *C. R. Acad. Sciences*, t. CCVII, p. 1124, 1938.
- Action exercée sur la caryocinèse et la cytotiérèse par quelques hydrocarbures cycliques et leurs dérivés. *C. R. Acad. Sciences*, t. CCVIII, p. 1427, 1939.
- Action de l'apiol sur la caryocinèse et la cytotiérèse de quelques Phanérogames. *C. R. Acad. Sciences*, t. CCIX, p. 805, 1939.
- *C. R. Acad. Sciences*, t. CCX, p. 576, 1940.
- *C. R. Acad. Sciences*, t. CCX, p. 114, 1940.
- GAVRILOV (W.) et VON BISTRAM. — Action de faibles doses de colchicine sur les fibroblastes du poussin et sur l'épithélium de son iris *in vitro*. *Bull. Assoc. Franç. pour l'étude du cancer*, t. XXVIII, p. 319, févr. 1939.
- GOLDNER (J.). — Action de l'adrénaline sur le thymus. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 545, 1923.
- GRANEL (F.). — La sensibilité de l'époophore à la testostérone. Réaction colchicinique. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, n° 22, p. 1255, 1939.
- GRÉGOIRE (Ch.). — Contribution à l'étude expérimentale du thymus des Mammifères. *Arch. Int. de Méd. exp.*, t. VII, p. 513, 1932.
- GUINOCHET (M.). — Observations et réflexions sur l'action de la colchicine sur les cellules végétales. *Bull. d'Histologie appliquée*, t. XVIII, n° 8, sept.-oct. 1941.
- *C. R. Acad. Sciences*, t. CCX, p. 579, 1940.
- GUYER (M.-F.) et CLAUS (P.-E.). — Irradiation of cancer following injection of colchicine. *Proceed. Soc. Exp. Biol. and Med.*, New-York, t. XLII, n° 2, pp. 565-569, nov. 1939.

- Destructive effects on carcinoma of colchicine followed by distilled water. *Proceed. Soc. Exp. Biol. and Med.*, New-York, t. XLIII, n° 2, pp. 272-274, fév. 1940.
- HAVAS (L.). — L'action de la colchicine sur le développement du phyto-carcinome de la tomate. Essai d'interprétation du mécanisme d'action de la colchicine. *Bull. Assoc. Franç. pour l'étude du cancer*, t. XXVI, p. 635, déc. 1937.
- *Chemical products*, juillet 1939.
- Effects of colchicine and of *Viscum album* preparations upon germination of seeds and growths of seedlings. *Nature*, t. CXXXIX, p. 371, 27, fév. 1937.
- Colchicine, « phytocarcinomata » and plant hormones. *Nature*, t. CXL, p. 191, july 1937.
- HAVAS (L.) and GAL (E.). — Effects of methylcholanthrene and colchicine administrated with plant extracts on the rat. *Nature*, t. CXLI, p. 284, 1938.
- HAVAS (L.). — Is colchicine a phytohormone? *Growth*, vol. II, n° 3, p. 257, 1938.
- HEARNE (E.-M.). — *Nature*, t. CXXXVIII, p. 291, 1938.
- HERTWIG (G.). — Trypaflavin als Radiumersatz zur Gewinnung haploikerniger Froschlarven. *Vehr. an. ges.*, april 1924.
- *An. Anz. Ezganz.*, Bd. 58.
- HERTWIG (O.) et (R.). — *Jahr. Zeitschr. für Naturwiss.*, t. XX, Heft. 1 et 2, 1887.
- HERTWIG (R.). — *Anat. Anz.*, 1886, t. I.
- ICKOWICZ (M.). — A propos des poisons dits caryoclasiques, l'action de l'arsylène et des acétates de cobalt et de nickel. *Annales d'Anat. Path.*, t. XII, p. 501, 1935.
- Etude comparée des effets de diverses substances introduites dans l'organisme par injection et par ionophorèse. *Arch. Int. de Méd. exp.*, t. XII, p. 171.
- ICKOWICZ (M.) et VON KOHLER (E.). — Le cataphorèse et la caryoclasie. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXI, pp. 960-962, 1936.

- L'action caryoclasique des composés arsenicaux introduits par ionophorèse. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIII, pp. 949-950, 1936.
- L'étude de la ionophérèse par la caryoclasie. *C. R. Assoc. Anat.*, 32^e Réunion, Marseille, pp. 224-227, mars 1937.
- JACOBSON (T.). — Action de la colchicine sur le cœur. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCIII, p. 1178, 1925.
- Action de la colchicine sur l'intestin et l'utérus. *C. R. Soc. Biol.* t. XCIII, p. 1192, 1925.
- JOLLY et LIEURE. — Influence de la gestation sur le thymus. *C. R. Soc. Biol.* t. CIV, p. 451, 1930.
- KATZENELBOGEN (S.). — Recherches expérimentales sur l'action de l'arsylène. *Arch. Intern. de Pharmacodyn. et de Thérap.*, t. XXVI, p. 407, 1922.
- KEMP (H.-P.). — On the question of the occurrence of heterotypical reduction in somatic cells. *Ann. of Bot.*, t. XXIV, p. 775, 1910.
- KIRSCHBAUM (A.), LITS (F.-J.), STRONG et GARDNER (W.-U.). — Studies on the lymphocytes of normal and leukemic mice. *Anat. Rec.*, t. XIII, pp. 359-367, 1938.
- KOSTOFF (D.). — Irregular mitosis and meiosis induced by acénaphène. *Nature*, t. CXLI, p. 758-1144, 1938.
- Production de plantes à caractères nouveaux par le doublement du nombre de chromosomes. *Rev. de Bot. appl. et d'agric.*, t. CCX, p. 81, 1939.
- Irregularities in the mitosis and polyploidy induced by colchicine and acénaphène. *C. R. Ac. Sc. U. R. S. S.*, t. XIX, pp. 193-196, 1938.
- Abnormal meiotic processes induced by acénaphène. *C. R. Ac. Sc. U. R. S. S.*, t. XX, pp. 169-171, 1938.
- LAHR (E.-L.) and RIDDLE (O.). — Prolifération of crop-sac epithelium in incubating and in prolactin injected pigeons, studied with the colchicine method. *Am. Journ. of Physiol.*, t. CXXIII, n° 3, pp. 613-619, 1938.
- LALLEMAND (Mme S.). — Action de la colchicine sur l'embryon de Poulet à divers stades du développement. *C. R. Acad. Sciences*, t. CCVIII, n° 13, p. 1048, 1939.

- LAUR (C.-M.). — Etude expérimentale de l'action de la colchicine sur certaines phases du développement cellulaire. *Soc. Anat. Paris*, séance du 7 juillet 1938. In *Ann. d'Anat. Path.*, t. xy, pp. 792-799, 1938.
- LEBLOND (C.-P.). — Action de la prolactine sur le jabot du Pigeon, mise en évidence par l'arrêt des mitoses à l'aide de la colchicine. *C. R. Assoc. Anat.*, 32^e Réunion, Marseille, pp. 241-247, 1937.
- LEBLOND (C.-P.) and ALLEN (E.). — Emphasis of the growth effect of prolactin on the crop-gland of the Pigeon by arrest of mitoses with colchicine. *Endocrinology*, t. XXI, n° 4, p. 455, 1937.
- LEBLOND (C.-P.) and SEGAL (G.). — Action de la colchicine sur la surénale et les organes lymphatiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVII, p. 995, 1938.
- LEBLOND (C.-P.) et SEGAL (G.). — Action des toxiques sur le thymus de l'animal sans surrénale. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIX, p. 838, 1938.
- LEFÈVRE (J.). — Similitude des actions cytologiques exercées par le phényluréthane et par la colchicine sur les plantules végétales. *C. R. Acad. Sciences*, t. CCVIII, p. 301, 1939.
- Actions similaires sur les mitoses végétales de l'ane-thol et des substances du groupe de la colchicine. *C. R. Acad. Agriculture*, t. XXIV, p. 944, 1938.
- LEVAN (A.). — The effect of colchicine on root-mitosis in *Allium*. *Hereditas*, t. XXIV, n° 4, pp. 471-478, 1938.
- Tetraploidy and octoploidy induced by colchicine in diploid *Petunia*. *Hereditas*, t. XXV, pp. 109-131, 1938.
- *Hereditas*, t. XXII, p. 18, 1939.
- LISON et GRÉGOIRE (C.). — Action des cacodylates sur la glande lymphatique d'*Astacus fluviatilis*. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXVII, p. 1217, 1934.
- LITS (F.-J.). — Contribution à l'étude des réactions cellulaires provoquées par la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXY, n° 12, p. 1421, 1934.

- Action de la colchicine sur l'ovaire de la Souris blanche. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxviii, p. 393, 1935.
- Recherches sur les réactions et lésions cellulaires provoquées par la colchicine. *Arch. Int. de Méd., exp.*, t. xi, fasc. 4, p. 811, 1936.
- LITS (F.-J.), KIRSCHBAUM (A.) and STRONG (L.-C.). — Action of colchicine on a transplanted malignant lymphoid neoplasm in mice of the C³H strain. *Am. Journ. Canc.*, t. xxxiv, n° 2, p. 196, oct. 1938.
- LOICQ (R.). — Recherches sur les effets de la colchicine sur la coagulabilité du sang. *Arch. int. méd. exp.*, t. xii, p. 371.
- LUDFORD (R.-J.). — The action of toxic substances upon the division of normal and malignant cells *in vitro* and *in vivo*. *Arch. f. Exper. Zellf.*, t. xviii, p. 411, 1936.
- MAIRET et COMBEMALE. — Recherches sur la toxicité de la colchicine. *C. R. Acad. Sciences*, t. civ, p. 439, 1887.
- Recherches sur le mode d'action de la colchicine prise à dose thérapeutique et le mécanisme de cette action. *C. R. Acad. Sciences*, t. civ, p. 515, 1887.
- MANGENOT (G.). — Effets de la colchicine sur la mitose dans les racines d'*Allium cepa* et d'*Hyacinthus orientalis*. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxviii, p. 501, 1938.
- Hypertrophie des racines produites par la colchicine chez quelques plantes. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxviii, p. 565, 1938.
- Action de la colchicine sur les cellules végétales. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccviii, p. 222, 1939.
- Ebauches radicellaires et colchicine. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccviii, p. 1105, 1939.
- MANGENOT (G.) et Mlle Carpentier (S.). — Sur les modifications structurales provoquées dans les racines de pois par le paraaminophénylesulfamide et l'acide paraaminobenzoïque. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxv, n°s 13 et 14, pp. 1152-1154, 1941.
- MAUREL (E.). — Influence de la voie d'administration sur les doses mortelles de colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. lxvii, p. 687, 1909.

- Influence de la voie d'administration sur la production de la diarrhée par la colchicine chez le Lapin. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxvii, p. 768, 1909.
- MAYER (Ch.). — A propos de la division caryocinétique des cellules hépatiques. *C. R. Assoc. Anat.*, 27^e Réunion, Nancy, pp. 402-408, mars 1932.
- Recherches anatomo-pathologiques expérimentales sur l'action de la tryptaflavine sur le tractus digestif. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. ix, pp. 427-459, 1935.
- MOTTRAM. — *British Journal of Experim. Path.*, t. xv, pp. 71-73, 1934.
- MOORE (C.-R.) and PRICE (D.). — *Endocrinology*, t. xxi, p. 313, 1937.
- NAVASHIN (H.). — Influence of acénaphène on the division of cells and nucléi. *C. R. Acad. Sc. U. R. S. S.*, t. xix, p. 193, 1938.
- NEBEL (B.-R.) et RUTTLE (M.-R.). — The cytological and genetical significance of colchicine. *Journal of Heredity*, t. xxix, p. 3, 1938.
- Cytological observations with colchicine. *Coll. Nat.*, t. xii, p. 130.
- Mechanism of polyploidy through colchicine. *Nature*, t. cxi, p. 1101, 1937.
- Colchicine and acenaphthene as polyploidizing agents. *Nature*, t. cxlii, p. 257, 1938.
- NEMEC (B.). — Ueber der Einwirkung des Chloralhydrat auf die Kern und Zellteilung. *Jahr büch f. wiss. Bot.* t. xxxix, pp. 645-730, 1904.
- *Das Problem der Befruchtungsvorgaenge und andere zytologische Fragen*. Berlin.
- Multipolare Teilungen in chloralisierten Wurzeln. *Vestník Kral. ces. spol. hank.* Bd. 2, 1929.
- NICAUD (P.), TAURET (P.) et TOULET (J.). — Anémie benzolique. Inefficacité des thérapeutiques classiques. Etude de l'action hémopoïétique de la colchicine. *B. M. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 57^e année, n^{os} 1 et 2, pp. 28-33, 17 janvier 1941.

- OBATON. — Influence de la colchicine sur le développement du *Photobactérium phosphoreum*. *C. R. Acad. Sc.*, t. CCVIII, p. 1534, 1939.
- O'MARA (J.-G.). — *Journ. of Hered.*, t. xxx, p. 35, 1939.
- OUGHTERSON (A.-W.), TENNANT (R.) and HIRSCHFELD (J.-W.). — Effect of colchicine on human tumours. *Proceed. soc. exper. biol. and med.*, t. xxxvi, p. 661, 1937.
- PAFF (G.-H.). — The action of colchicine upon the 48 hour chick's embryo. *Am. Journ. of Anat.*, t. LXIV, p. 331, 1939.
- PÊCHER (Y.) et (C.). — Les poisons caryoclasiques. *Presse Médicale*, n°s 66-67, p. 840, 30 juillet-2 août 1941.
- PEYRON (A.), LAFAY (B.) et KOBOZIEFF (N.). — Sur la régression de la tumeur de Shope du Lapin sous l'action de la colchicine. *Bull. Assoc. Franç. pour l'étude du cancer*, t. XXVI, n° 6, p. 874, 1936.
- PEYRON (A.), POUMEAU-DELILLE (G.) et LAFAY (B.). — La tumeur de Shope du Lapin et sa stérilisation par la colchicine. *Bull. Ass. Franç. pour l'étude du cancer*, t. XXVI, n° 6, pp. 625-634, 1937.
- PEYRON (A.). — Sur l'évolution maligne du papillo-épithéliome du Lapin et son mode de régression sous l'action de la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVI, p. 695, 1937.
- Colchicine et tumeur malignes. *Sphère Méd.*, t. I, pp. 8-10, mai 1938.
- PIETTRE (L.). — Action de la colchicine chez les végétaux. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, n° 22, p. 1095, 1939.
- Réaction uniforme des plantules de cresson alenois à l'action des solutions de colchicine. *C. R. Soc. Biol.* t. CXXX, n° 13, p. 1434, 1939.
- PITON (R.). — Recherches sur les actions caryoclasiques et caryocinétiques des composés arsenicaux. *Arch. Int. de Méd. exp.*, t. v, pp. 355-411, 1929.
- PITON (R.) et ROCMANS (M.). — Contribution à l'étude des mécanismes cyto-régulateurs. Actions cellulaires et modifications humorales déclenchées par l'anhydride arsénieux. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. v, pp. 509-532, 1939.

- *Le Cancer*, t. VIII, fasc. I, 1930.
- POLITZER (G.). — Pathologie der Mitose. *Protoplasma monographien*, t. VII, Geb. Borntraeger, Berlin, 1934.
- *Zeits. f. Zellf. und mikr. Anat.*, t. XIII, 1931.
- *Vehr d. zool. path. Gesellsch.*, in Wien, 1924-1925.
- RAYMOND-HAMET. — Sur une propriété physiologique nouvelle de la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXVIII, p. 1292, 1935.
- REDING (R.) et SLOSSE (A.). — Influence du pH sur la division cellulaire. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCXVIII, pp. 878-879, 1926.
- RICHARDS (O.-W.). — Colchicine stimulation of yeast growth fails to reveal mitosis. *Journal of Bact.*, t. XXXVI, n° 2, pp. 187-195, 1938.
- The stimulation of yeast growth by colchicine. *An. Record*, t. LXX, 1937.
- ROSSBACH. — Action physiologique de la colchicine. In *Bull. de Thérap.*, t. XCI, p. 426.
- *London Med. Record*, p. 458, 15 oct. 1876.
- RYBIN (V.-A.). — Colchicine induced polyploidy in *Flox*. *C. R. Acad. Sc. U. R. S. S.*, t. XXI, n° 6, p. 302, 1938.
- SAKAMURA. — Ueber die Einschnuerung der Chromosomen bei V. Faba, *Bot. Mag., Tokyo*, t. XX, pp. 287-300, 1915.
- Ueber die Beeinflussung der Zell, und Keimteilung durch die chloralesierung mit besonderer Ruecksicht auf das Verhalten der Chromosomen. *Bot. mag. Tokyo*, t. XXX, 1916.
- SANTAVY (F.). — Glucose du sang chez les chiens intoxiqués par la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVI, p. 633, 1937.
- SANTAVY (F.) et KADLEC (K.). — Glucose du sang chez le Chien intoxiqué par la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVIII, n° 24, p. 105, 1938.
- SANTAVY (F.) et SÉRY (F.). — Glutathion et intoxication par la colchicine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVIII, n° 24, p. 106, 1938.
- SCHOTTLANDER. — *Arch. f. Mikrosk. Anat.*, 1888.

- SCHMUCK (A.). — The chemical nature of substances inducing polyploidy in plants. *C. R. Acad. Sc. U. R. S. S.* t. xix, pp. 182-192, 1938.
- SCHMUCK (A.) et KOSTOFF (E.). — *C. R. Acad. Sc. U.R.S.S.*, t. xxiii, pp. 263-66, 1939.
- SIMONET (M.) et DANSEREAU (P.). — Sur plusieurs mutations tétraploïdes de *Pétunia* apparues après traitement par la colchicine. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccvi, pp. 1832-1834, 1938.
- SIMONET (M.), CHOPINET (R.) et SONILJAERT (G.). — Sur l'obtention d'un *Linum irritatissimum* tétraploïde par application de colchicine. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccvii, n° 1, pp. 85-87, 1938.
- SIMONET (M.). — Sur l'hérédité des mutations tétraploïdes de *Pétunia* obtenues après application de colchicine. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccvii, n° 23, p. 1126, 1938.
- Sur l'obtention de plantes géantes et polyploïdes après application de colchicine. *C. R. Acad. d'Agr.*, t. xxiv, pp. 846-850, 1938.
- De l'obtention de variétés à grandes fleurs après application de colchicine. *Revue d'Hort.*, t. xxvi, pp. 159-161, 1938.
- SIMONET (M.) et GUINOCHET (M.). — Obtention par les α monochloronaphtalène et α monobromonaphtalène d'effets comparables à ceux exercés sur les caryocinèses végétales par la colchicine. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccviii, p. 1427, 1939.
- Comparaison de l'action sur le Blé et le Lin de diverses substances provoquant des anomalies de la caryocinèse. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccviii, p. 1667, 1939.
- SIMONET (M.) et ARMENZONI. — *C. R. Acad. Sciences*, t. ccix, p. 354, 1939.
- SIMONET (M.) et CHOPINET (R.). — Apparition de mutations géantes et polyploïdes chez le Colza, la Pervenche et le Lin à grandes fleurs, après application de colchicine. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccix, pp. 238-240, 1939.

- SIMONET (M.) et GUINOCHET (M.). — Sur l'apparition dans les tissus végétaux de cellules polyploïdes sous l'influence des vapeurs de paradichlorobenzène. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxx, p. 1057, 1939.
- Anomalies morphologiques et caryologiques provoquées sur les jeunes plantules par les dérivés halogénés des carbures cycliques. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxi, n° 16, p. 222, 1939.
- *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxii, p. 435, 1939.
- SIMONET (M.). — *C. R. Acad. Sciences*, t. ccx, p. 510, 1940.
- Anomalies de la caryocinèse végétale des types colchicinique et paradichlorobenzénique produites par un dérivé nitré des carbures cycliques: le méta-nitroxylène 1, 3, 5. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxiii, n° 4, p. 561, 1940.
- SIMONET (M.) et CHOPINET (M.). — Sur l'obtention de plantes octoploïdes et hétéroploïdes après traitement par la colchicine. *Rev. de Cytol. et de Cytophys. végét.*, t. iv, fasc. 3 et 4, pp. 231-238, 1940.
- SLOSSE (A.) et REDING (R.). — Etude des altérations humorales dans le cancer et le pré-cancer. *Bull. Acad. Roy. Belg.*, t. vii, pp. 405-435, 1927.
- SOLACULU (Th.) et CONSTANTINESCO (M.) et (D.). — Etude anatomique et cytologique des modifications provoquées par le mélange obtenu d'une substance organo-formatrice et la colchicine. *C. R. Ac. Sciences*, t. ccvii, n° 3, p. 246, 1938.
- Action de la colchicine sur les tumeurs végétales provoquées par le *Bacillus Tumefaciens*. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxx, n° 11, p. 1148, 1939.
- TISLOWITZ (R.). — Kongressbericht II. *Des XVI° Intern. Physiol. kongres*, Zurich, 1938.
- TURCHINI (J.). — La multiplication des éléments anatomiques. *Languedoc Médical*, 12° année, n° 3, pp. 86-89, 1929.
- VANDENDRIES (R.) et GAVAUDAN (P.). — Action de la colchicine sur quelques organismes inférieurs. *C. R. Acad. Sciences*, t. ccviii, pp. 1675-1677, 1939.

- VAN HEERSWYNGHEL (J.). — De l'action de la trypaflavine sur le thymus, les organes lymphoïdes, les mégacaryocytes de la rate, les surrénales et le pancréas. *Arch. Int. Méd. exp.*, t. ix, pp. 460-479.
- VAN REGEMORTER (D.). — Les troubles cinétiques dans les racines chloralisées et leur portée pour l'interprétation des phénomènes normaux. *La Cellule*, t. xxxvii, p. 43, 1926.
- VERNE (J.) et VILTER (V.). — Etude de l'action de la colchicine sur les mitoses des fibroblastes cultivés *in vitro*. Concentration dite forte. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxiii, n° 4, p. 618, 1940.
- Mécanisme d'action de la colchicine employée en concentration faible sur l'évolution de la mitose dans les cultures de fibroblastes *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxiii, n° 4, p. 621, 1940.
- VILLARS (R.). — Contribution à l'étude cytologique de l'action des rayons X sur les cellules végétales. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxi, n° 21, p. 947, 1939.
- Etude cytologique de l'action du thymol sur les cellules végétales. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxiii, n° 2, p. 206, 1940.
- Etude cytologique de l'action des rayons X sur les racines colchicinisées. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxxxiii, n° 3, p. 424, 1940.
- VON MOELLENDORF. — *Protoplasma*, 1938.
- DE WALSCHE. — Recherches sur les ondes de mitoses et de pynoses provoquées par la toxine staphylococcique. *Arch. Biol.*, t. xlii, p. 190, 1931.
- WALKER (R.-I.). — The effect of colchicine on microspore mother cells and microspores of *Tradescantia paludosa*. *Amer. Journ. Bot.*, t. xxv, n° 4, pp. 280-285, 1938.
- WATJEN (J.). — Ueber experimentelle toxische Schädigung des lymphatischen Gewebes durch Arsen. *Virchow's arch.*, t. cclvi, p. 86.
- *Et Vehr der Deut. Path. Gesel.*, 1925.

- DE WINIWARTER. — Influence de la gestation sur les îlots thymiques du corps thyroïde. *C. R. Soc. Biol.* t. xcv, p. 1445, 1926.
- WOLFF (O.-M.). — *Anat. Record*, t. LXX, 1937.
- ZUCKERMANN (S.). — Tissue proliferation displayed by the colchicine technique. *Proceed. Anat. Soc. of Great-Britain and Ireland*, in *Journ. of Anatomy*, t LXXII, p. 176, 1937-1938.
- ZYLBERSZAC (S.). — Sur les propriétés caryoclasiques des iodures. *C. R. Soc. Biol.*, t. cvii, p. 1570, 1931.
- Mise en évidence du système réticulo-endothélial par une substance sans effet caryoclasique. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxiii, p. 89, 1933.
- A propos du mécanisme du choc caryoclasique. *C. R. Soc. Biol.*, t. cxiv, p. 177, 1933.
-

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE 1

LA MITOSE NORMALE

Toutes ces figures correspondent à des cellules de la cornée de Molge alpestris Laur.

FIG. 1. — *Prophase 1.* — Le spirème n'est pas encore formé, mais le réseau chromatique tend à devenir régulier; la membrane nucléaire persiste.

FIG. 2. — *Prophase 2 ou spirème serré.* — Les anses du spirème sont anguleuses et le diamètre du ruban est mince; la membrane nucléaire existe encore.

FIG. 3. — *Prophase 3 ou spirème lâche.* — Le peloton est formé par un ruban épais à spires amples et sinueuses. Persistance de la membrane nucléaire.

FIG. 4. — *Prémétaphase ou spirème fragmenté.* — Les chromosomes bien individualisés, séparés entre eux, tendent à se placer à l'équateur; mais ils n'ont encore ni leur forme en V classique, ni leur disposition rayonnante, ni leur régularité. Se stade, normalement peu fréquent, s'allonge beaucoup et devient très souvent visible dans l'intoxication colchicinique.

FIG. 5. — *Métaphase, monaster, ou plaque équatoriale.* — Le fuseau est formé, dans cette figure il est un peu oblique par rapport au plan de la lame. Les chromosomes commencent à se cliver. Figure peu fréquente après la colchicine.

FIG. 6. — *Début d'anaphase ou diaster.* — La migration polaire est amorcée, mais les deux groupes de chromosomes sont encore insuffisamment séparés.

FIG. 7. — *Anaphase proprement dite.* — L'ascension vers les centres s'effectue.

FIG. 8. — *Télophase proprement dite.* — La membrane intercellulaire (cytodiérèse) est apparue, les chromosomes sont réunis en amas, ils sont encore épais.

- FIG. 9. — Les chromosomes sont toujours en amas, mais les deux cellules filles sont mieux séparées. Il n'y a pas encore de membrane nucléaire.
- FIG. 10. — Les noyaux se reconstituent par formation des deux membranes nucléaires et tendance à la vésiculation des chromosomes. C'est la fin de division.

PLANCHE 2

LA MITOSE COLCHICINIQUE
ET SA DEGENERATION

Les dix-neuf premières figures sont tirées de préparations de cornée de Molge alpestris Laur.

- FIG. 11. — *Prémétaphase colchicinique.* — Elle ne diffère de la prémétaphase normale que par la tendance au clivage qui se manifeste déjà. Les chromosomes sont épais.
- FIG. 12. — *Prémétaphase colchicinique.* — Le clivage est fait, les anses chromatiques sont grêles, mais restent à peu près parallèles.
- FIG. 13. — *Prémétaphase colchicinique.* — La plupart des paires chromosomiques sont bien séparées, mais on les reconnaît encore.
- FIG. 14. — *Prémétaphase colchicinique.* — Ici, les chromosomes ont perdu toute ordonnance. Aucun fuseau n'apparaît.
- FIG. 15. — *Pseudométaphase colchicinique.* — Des chromosomes aberrants se disposent au centre de la plaque équatoriale, là où devrait se trouver le fuseau.
- FIG. 16. — *Pseudoanaphase colchicinique.* — Les deux pôles cellulaires font sentir leur attraction. Les chromosomes y répondent comme ils peuvent. Pas de fuseau.

Les figures suivantes se rapportent à des états de dégénération:

- FIG. 17. — *Anaphase anormale.* — Les chromosomes sont plus épais et plus courts, ils tendent à s'agglutiner.
- FIG. 18. — *Télophase anormale.* — Au lieu d'avoir tendance à devenir plus clairs, les groupes chromatiques fils apparaissent très foncés, presque pycnotiques. Un halo clair les sépare du sytoplasme. C'est une vraie « pycnose de télophase ».
- FIG. 19. — *Anaphase avec chromosomes aberrants.* — L'un d'entre eux se trouve à égale distance des deux pôles, un halo clair l'entoure. S'il s'agissait de cellules végétales on pourrait voir se former un pont intercellulaire. Cet aspect s'observe très rarement chez les individus normaux.

Les cinq figures suivantes correspondent à des cornées de têtard de *Bufo vulgaris* Laur. On remarquera la plus petite taille des cellules et surtout des noyaux, et la différence de grandeur entre les cellules au repos et les cellules en stathmocinèse.

FIG. 20. — Début de dégénérescence de la prémétaphase. — Chromosomes déjà un peu agglutinés, moniliformes, entourés d'un halo clair. Dans la cellule végétale cet aspect aboutit à la reconstitution sur place d'un noyau tétraploïde.

FIG. 21. — Même aspect avec un degré de plus dans le sens de la pynose.

FIG. 22. — Même aspect, mais ici un chromosome aberrant.

FIG. 23. — Dégénération plus avancée: on ne reconnaît plus les chromosomes.

FIG. 24. — *Morula nucléaire*. C'est le dernier stade avant la pynose homogène.

PLANCHE 3

COMPARAISON DE L'ACTION DE LA COLCHICINE SUR LA CELLULE NORMALE ET NEOPLASIQUE

FIG. 25. — Action de la colchicine sur la cornée de têtard de *Pelodytes* sp. (immersion dans la solution, 36^e heure d'action). — Nombreuses prémétaphases; quelques-uns ont tendance à s'agglutiner, mais aucune n'est en dégénérescence pynotique vraie.

FIG. 26. — Action de la colchicine sur la cornée de *Hyla arboréa* L., adulte. — Nombreuses boules pynotiques entourées d'un halo clair (injection de colchicine, 12^e heure). L'action a été beaucoup plus énergique malgré le temps plus court.

FIG. 27. — Action de la pommade colchicinisée sur un épithélioma basocellulaire, 48 heures après l'application. Biopsie. — On remarquera l'aspect des mitoses intoxiquées, analogue à celui que montre la figure précédente.

FIG. 28. — Action de la pommade colchicinisée sur un épithélioma atypique, six jours après l'application. Biopsie. — L'action de la colchicine est beaucoup plus nette et beaucoup plus énergique. Les cellules sont plus petites que dans la figure 3, les mitoses aussi.

PLANCHE 4

ACTION DE LA COLCHICINE SUR LE CANCER

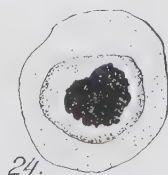
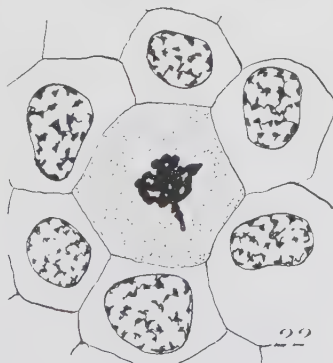
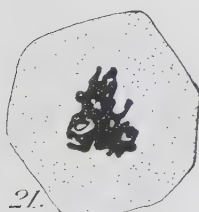
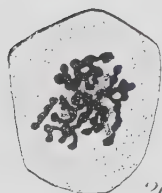
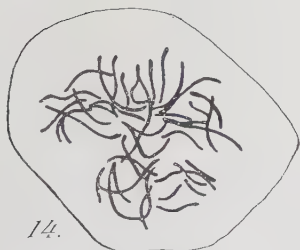
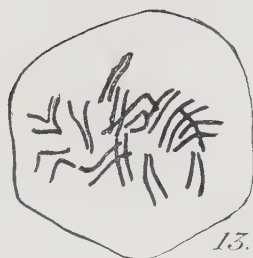
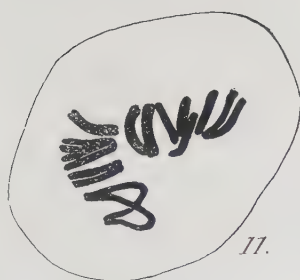
- FIG. 29. — *Épithélioma atypique avant traitement par la colchicine* (biopsie 1). — Pas de mitoses visibles.
- FIG. 30. — *Le même épithélioma* (biopsie 2), *après action de la pommade colchicinisée*. — Mitoses colchiciniques de type pycnotique (48^e heure d'action).
- FIG. 31. — *Le même épithélioma en un point différent* (objectif à immersion). Les chromosomes séparés et dispersés dans le protoplasme ont pris un aspect de tétrades, ils sont entourés d'un halo clair. C'est le premier type d'action.
- FIG. 32. — *Autre épithélioma, basocellulaire, après 48 heures de pommade colchicinisée*. — Aspects condensés des mitoses bloquées; deuxième type d'action colchicinique.
- FIG. 33. — *Même épithélioma atypique que dans les figures 1, 2 et 3*. — Autre point de la préparation. Type intermédiaire d'action sur la mitose. Chromosomes agglutinés mais encore distincts.

Ces trois dernières figures sont destinées à montrer les aspects les plus courants de l'action de la colchicine sur la division des cellules néoplasiques.

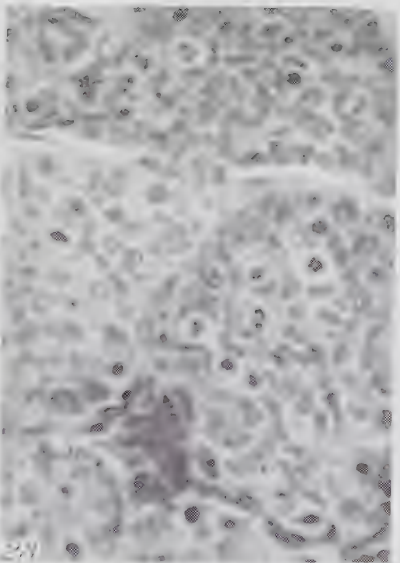
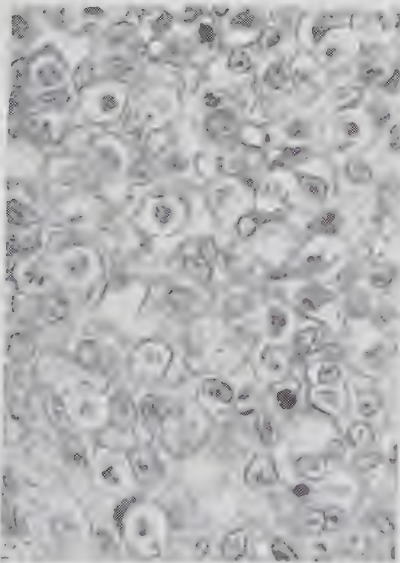
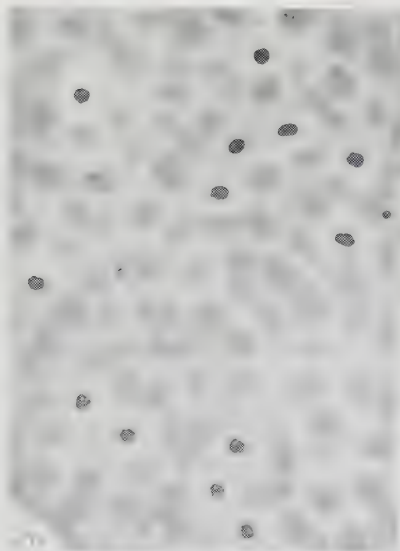
On remarquera dans les figures 4 et 5 la condensation cytoplasmique qui entoure le noyau.



Ch. Bonhomme del



0 5 10 μ



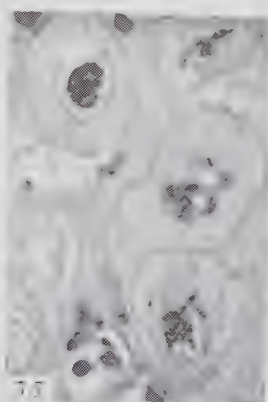
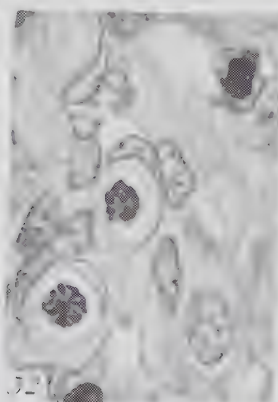
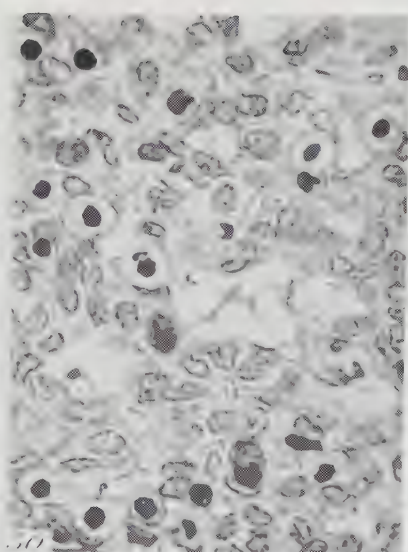
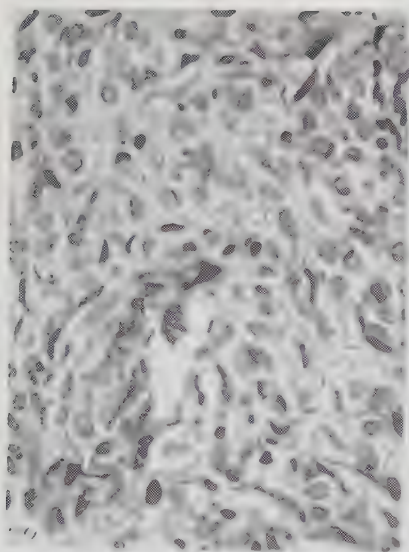


TABLE DES MATIERES

	PAGES
INTRODUCTION.	7
CHAPITRE PREMIER	
HISTOIRE D'UNE DECOUVERTE	11
I. — LA STRUCTURE DU THYMUS: PRIORITÉ DU THYMOCYTE.	12
II. — LES VARIATIONS FONCTIONNELLES DU THYMUS ET LEUR SIGNIFICATION.	13
III. — LA DESTRUCTION: PYCNOSE ET CARYORRHEXIS	14
IV. — LA RÉGÉNÉRATION, SES CAUSES	15
A) <i>Injection de vitellus</i>	15
B) <i>Injection de protéines étrangères</i>	16
V. — ANALYSE DE L'AGENT MITOGÈNE	18
A) <i>Action des divers constituants du sérum..</i>	18
B) <i>Action de la répétition des doses: la ciné- phylaxie.</i>	19
VI. — RELATION ENTRE MITOSES ET PYCNOSES, LES PHÉNO- MÈNES LIMITATIFS DE LA PROLIFÉRATION	20
VII. — LES FACTEURS DE PYCNOSE: L'ACIDOSE EXPÉRIMENTALE.	21
VIII. — UN TOURNANT DE LA DÉCOUVERTE: L'ACTION DU BLEU TRYPAN.	23
IX. — L'ACTION DES COLORANTS D'ACRIDINE: LA TRYPAFLA- VINE. LES SENSIBILITÉS DIFFÉRENTIELLES ET L'EXCRÉ- TION SPHÉRULAIRE	24
A) <i>Action de la trypaflavine</i>	24
B) <i>Les sensibilités différentielles</i>	25
C) <i>L'excrétion sphérulaire</i>	26
X. — L'ACTION DES ARSENICAUX, LES PREMIERS EXCITANTS DE LA DIVISION CELLULAIRE.	30
<i>Historique.</i>	30

	PAGES
<i>Résultats des expériences</i>	31
1° L'anhydride arsénieux	31
2° Le cacodylate de soude	34
3° L'arrhénal.	34
4° L'atoxyl.	35
<i>Conclusions.</i>	35
<i>Action des arsenicaux et alcalose</i>	36
XI. — RÉFLEXIONS SUR CET ENCHAÎNEMENT D'EXPÉRIENCES ..	37
XII. — TRAVAUX PARALLÈLES ET CONVERGENTS	38
A) <i>Travaux de Jolly</i>	38
B) <i>Travaux de Firkef</i>	39
XIII. — LES PRÉCURSEURS	40.

CHAPITRE II

LA COLCHICINE ET SON MODE D'ACTION	43
I. — DÉCOUVERTE ET ANALYSE DE L'ACTION DE LA COLCHICINE	43
1° <i>D'abord qu'est que la colchicine?</i>	43
2° <i>La leucocytose colchicinique</i>	45
A) <i>Travaux de Dixon et Malden</i>	45
B) <i>Quelques réflexions sur ces faits</i>	47
3° <i>L'action de la colchicine sur la mitose</i> (Dustin et Lits)	48
4° <i>Interprétation des faits expérimentaux</i>	49
A) <i>L'excitation de la mitose</i>	49
B) <i>Devenir des mitoses colchiciniques</i>	50
C) <i>Où l'on retrouve l'excrétion sphérulaire.</i>	52
5° <i>Analyse de l'action de la colchicine par Lits.</i>	53
1° <i>Le Sang. — A) Leucocytose</i>	54
B) <i>Acide urique</i>	54
2° <i>Le thymus</i>	55
3° <i>Organes lymphoïdes</i>	56
4° <i>Moelle osseuse</i>	57
5° <i>Intestin.</i>	57
6° <i>Foie.</i>	57
7° <i>Pancréas.</i>	58
8° <i>Glandes salivaires</i>	58
9° <i>Cœur.</i>	58
10° <i>Poumons.</i>	59
11° <i>Reins.</i>	59
12° <i>Surrénales.</i>	59
13° <i>Ovaires.</i>	59
14° <i>Autres tissus</i>	60
15° <i>Tissus d'embryons et d'animaux jeunes.</i>	60

	PAGES
6° Action de la colchicine suivant la dose	60
a) Doses faibles	61
b) Doses fortes	61
c) Doses très fortes	61
II. — CRITIQUE DES CONCEPTIONS DE DUSTIN ET LITS	62
1° Que signifie la leucocytose colchicinique? Est-elle un argument en faveur de l'action excito-mitotique?	62
2° Le fait qu'on observe beaucoup de mitoses dans un champ microscopique ne prouve pas qu'elles soient augmentées par stimulation de la division	63
3° L'aspect de la mitose colchicinique	64
III. — ANALYSE PLUS DÉTAILLÉE DU MODE D'ACTION	66
1° Variations de la porte d'entrée	66
2° Variations du solvant	67
3° Variations d'une solution de colchicine en fonction du temps et de l'exposition à la lumière.	67
4° Variations du matériel biologique utilisé. Action sur les animaux	70
1° Protozoaires et Protistes	70
A) Flagellés.	70
a) Travaux de Gavaudan et Kobo- zieff sur <i>Chlamydomonas</i> sp.	70
b) Travaux de Vandendries et Ga- vaudan sur <i>Euglena gracilis</i> ..	71
B) Levures.	71
a) O.-W. Richards.	71
b) C.-M. Laur	71
c) Gavaudan.	72
C) Bactéries.	72
a) Vandendries et Gavaudan	72
b) Obaton.	72
2° Métazoaires.	73
A) Invertébrés.	73
B) Amphibiens.	BA
D) Mammifères.	74
5° Variations du matériel biologique utilisé. Action sur les végétaux	74
1° Macroscopiquement.	76
2° Microscopiquement.	76
A) Action sur le nombre des mitoses..	76
B) Action sur la prophase	77
D) Action sur la télophase	78

	PAGES
a) Formation d'un seul noyau poly- ploïde.	78
b) Formation de deux noyaux plus ou moins normaux	79
E) Action sur la taille et la forme des noyaux.	79
F) Généralités sur le mécanisme d'action.	80
6° Réflexions sur ces nouveaux faits expé- rimentaux.	81
7° Nouvelles recherches sur l'action de la colchi- cine chez les Batraciens	82
A) Travaux de Delcourt	82
a) Confirmation de faits acquis	82
b) Acquisition de faits nouveaux	83
B) Travaux de Bureau et Vilter	87
8° Autres travaux sur l'animal <i>in vivo</i> confir- mant les conclusions de Bureau et Vilter	89
9° Action de la colchicine sur les cultures de tissus.	90
A) Ludford (1936)	91
B) Gavrilov et von Bistram (1939)	91
C) Verne et Vilter	92

CHAPITRE III

LES AUTRES TOXIQUES DE LA DIVISION CELLULAIRE	95
LEURS CARACTERES ET LEUR CLASSIFICATION	95
I. — GROUPE DES COLORANTS	98
1° <i>Colorants d'acridine</i>	98
A) Trypaflavine (Dustin, Mayer et van Heerswyngheles).	98
B) Rivanol (<i>id.</i>)	100
C) Moranyl, ou 309 Poulenc ou Germaine Bayer (<i>id.</i>)	100
2° <i>Colorants d'aniline</i>	101
A) Bleu trypan (Dustin)	101
B) Bleu pyrrhol (Dustin)	101
C) Bleu d'isamine (Bernhardt, Roosen, Dus- tin).	101
D) Bleu brillant crésyl ou auramine (Politzer).	102
E) Bleu nil (Politzer)	102

F) Cristal violet ou violet de méthyle (Politzer).....	103
G) Vert brillant (Dustin).....	103
H) Vert malachite (Dustin).....	103
I) Erythrosine (Dustin, Jolly).....	103
J) Rouge neutre (Politzer).....	103
II. — GROUPE DES ARSENICAUX (Dustin, Piton et Rocmans).....	104
A) Anhydride arsénieux.....	104
B) Cacodylate de soude.....	104
C) Arrhénal.....	104
D) Atoxyl.....	105
III. — GROUPE DES CORPS GRAS.....	106
A) Paraffine liquide et suspension d'oléate ferreux dans la paraffine (Firket).....	107
B) Saponine (Chodkowski).....	107
C) Action des substances huileuses chez les Végétaux.....	109
IV. — GROUPE DES ALCOOLS.....	110
A) Alcool éthylique.....	110
B) Alcool méthylique.....	110
V. — GROUPE DES NARCOTIQUES.....	110
A) Ether (Moine et Korfeld, Politzer).....	110
B) Chloroforme (Wilson).....	110
C) Chloréthone (Moine et Korfeld, Politzer).....	111
D) Hydrate de chloral (Nemec, Sakamura, van Regemorter, Gavaudan, Garrigues).....	111
a) Macroscopiquement.....	111
b) Cytologiquement.....	112
VI. — GROUPE DES AUTRES DÉRIVÉS MÉTALLOÏDIQUES.....	115
Iodure de potassium.....	115
VII. — GROUPE DES DÉRIVÉS MÉTALLIQUES.....	115
A) Mercure.....	115
B) Zinc.....	116
C) Or.....	116
D) Bismuth.....	116
E) Nickel et cobalt.....	116
F) Thallium.....	116
VIII. — GROUPE DES SUBSTANCES BIOLOGIQUES.....	116
A) Venin d'Abeille (Cornil et Poursines).....	116
B) Toxine diphtérique (Dustin et Leroy).....	117
C) Toxine staphylococcique (De Walsche).....	117
IX. — GROUPE DES CARBURES NITRO-INHIBITEURS.....	118
A) Benzol (Dustin).....	118
B) Acénaphène.....	119
C) Naphtalène (Gavaudan et Durand).....	120

	PAGES
D) Diphényle (Gavaudan et Durand)	121
E) Paradichlorobenzène (Simonet et Guinochet).	121
Conclusions.	124
X. — DERNIERS VENUS: LES SULFAMIDES	128

CHAPITRE IV

APPLICATIONS BIOLOGIQUES: LA REACTION COLCHICINIQUE 131

I. — APPLICATION A L'ÉTUDE DES PHÉNOMÈNES D'HYPERPLASIE CELLULAIRE ET DE RÉGÉNÉRATION	131
1° <i>Hyperplasie de régénération en biologie et en pathologie expérimentale</i>	133
A) Cicatrisation.	133
B) Hypertrophie compensatrice	134
C) Limitation des processus pathologiques par la formation d'un barrage histiocyttaire.	135
D) Etude de la cirrhose expérimentale	135
E) Hématopoïèse et développement des organes hématopoïétiques	136
F) Etude de l'inflammation	137
G) Etude de la régénération et de la croissance.	137
2° <i>Hyperplasie cellulaire sous l'effet des injections d'hormones.</i>	137
A) Action de la theeline ou œstrone sur l'appareil génital	138
B) Action de la prolactine sur le jabot des pigeons.	139
C) Action de la testostérone sur l'appareil génital mâle	140
D) Action de la testostérone sur l'épiphore du Cobaye	141
E) Action d'extrait anté-hypophysaire sur la thyroïde.	141
F) Action des hormones ovariennes sur les parathyroïdes.	142
G) Action de l'extrait anté-hypophysaire sur l'appareil génital femelle	142
H) Etude des glandes endocrines dans la grossesse.	143
I) Action générale des hormones sexuelles sur les caractères sexuels chez les Batraciens.	144

	PAGES
II. — APPLICATION A LA TÉRATOLOGIE EXPÉRIMENTALE	144
III. — APPLICATION A LA BIOLOGIE VÉGÉTALE	146

CHAPITRE V

APPLICATIONS CLINIQUES ET THERAPEUTIQUES	147
I. — TRAVAUX PRÉLIMINAIRES	148
II. — APPLICATIONS DES PREMIERS AGENTS CARYOCLASIQUES CONNUS: ARSENICAUX ET TRYPAFLAVINE	149
III. — ACTION DE LA COLCHICINE SUR LES TUMEURS EXPÉRI- MENTALES.	151
A) Travaux de Lits sur les tumeurs greffées (1935-1936).	151
B) Travaux de Peyron, Poumau-Delille et Lafay (1936-1937)	153
C) Travaux de Clearkin (1937)	154
D) Travaux de E. Boyland et M.-E. Boyland (1937).	155
E) Travaux de Brues et Jackson (1937)..	155
F) Nouvelles recherches de Lits (1938) ..	156
IV. — ACTION DE LA COLCHICINE SUR LES TUMEURS HUMAINES.	157
V. — AUTRES MANIÈRES D'APPLIQUER A L'ÉTUDE DU CANCER SUR LA RÉACTION COLCHICINIQUE	158
VI. — AUTRES APPLICATIONS A LA PATHOLOGIE HUMAINE	158
VII. — APPLICATION D'AUTRES TOXIQUES A LA THÉRAPEUTIQUE DES TUMEURS	159
VIII. — APPENDICE: ACTION SUR LES TUMEURS VÉGÉTALES	160

CHAPITRE VI

TRAVAUX PERSONNELS	165
I. — TRAVAUX SUR LE MODE D'ACTION DE LA COLCHICINE ..	165
<i>Choix du matériel</i>	166
<i>Comment nous avons distingué les diverses</i> <i>phases de la mitose</i>	169
A) La prophase	169
B) La métaphase	170
C) L'anaphase.	170
D) La télophase	171
<i>Expériences préliminaires</i>	171
A) Têtards de <i>Bufo vulgaris</i> Laur.	171
a) Effets macroscopiques	172

	PAGES
b) Effets micorscopiques	172
c) Effets sur le développement	174
B) Larves d'Urodèles (<i>Molge palmata</i> Sch.)	175
<i>Expériences principales</i>	177
1° Têtards de <i>Bufo vulgaris</i>	177
A) Observations quantitatives	178
a) Nombre total de mitoses	178
b) Comparaison entre l'importance des stades initiaux et terminaux	179
c) Nombre des prémétaphases	180
d) Nombre des métaphases.....	181
e) Nombre des phases terminales ..	181
f) Précisions sur les prophases	182
B) Observations morphologiques	185
2° Larves très jeunes de <i>Bufo vulgaris</i>	187
3° Action sur les tissus d'autres Batraciens Anoures.	188
4° Action sur les Tritons alpestres	189
A) Cornée.	189
B) Autres organes	193
II. — TRAVAUX SUR LE MODE D'ACTION DU CHLORAL	194
III. — ACTION COMBINÉE DES RAYONS X ET DE LA COLCHICINE.	196
IV. — ACTION DE LA COLCHICINE SUR LE CANCER HUMAIN ..	198
1° Procédés employés	199
2° Malades traités par application de pommade colchicinée. Observations	201
3° Malade traitée par injections de colchicine en solution huileuse dans la tumeur	204
SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS	207
BIBLIOGRAPHIE.	213
EXPLICATION DES PLANCHES.	241
PLANCHES.	245
TABLE DES MATIÈRES.	245

S E R M E N T

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples, et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

En ma qualité de censeur de
tour, j'ai lu la thèse ayant pour
titre :

**L'Action des toxiques
sur la cellule en division
par Paul SENTAIN**

Je pense que la Faculté peut
en permettre l'impression.

**Le professeur.
J. TURCHINI.**

Montpellier, 6 décembre 1941

Vu :
Montpellier, 6 décembre 1941.

**Le Doyen,
G. GIRAUD**

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, 8 décembre 1941.

**Le Recteur,
J. SARRAILH.**

